

Paediatrica Croatica

Vol. 69
Suppl 2
2025



UDK 616 – 053.2 · ISSN 1330-724X · CODEN PCROE6

Paediatrica Croatica

Vol. 69 Suppl 2 2025

Izdavač:



Klinika za dječje bolesti Zagreb
Children's Hospital Zagreb

10000 Zagreb, Klaićeva 16

Paediatrica Croatica – Godište 69

Suppl 2 (str. 1–364)

Zagreb, travanj 2025.



41. SEMINAR HRVATSKA PROLJETNA PEDIJATRIJSKA ŠKOLA

Split, 07. - 11. travnja 2025. godine

Organizatori

Klinički bolnički centar Split – Klinika za dječje bolesti
Hrvatsko pedijatrijsko društvo
Hrvatsko društvo za školsku i sveučilišnu medicinu
Hrvatska udruga medicinskih sestara – Pedijatrijsko društvo
Sveučilište u Splitu – Sveučilišni odjel zdravstvenih studija

Voditeljica:

izv. prof. dr. sc. Branka Polić, dr. med.

Zamjenik:

izv. prof. dr. sc. Joško Markić, dr. med.

Stručni savjetnici:

prof. dr. sc. Vjekoslav Krželj, dr. med.,
izv. prof. dr. sc. Radenka Kuzmanić Šamija, dr. med.

Počasni odbor

prof. dr. sc. Aida Mujkić, dr. med.; prof. dr. sc. Julije Meštrović, dr. med.; prof. dr. sc. Veselin Škrabić, dr. med.; prof. dr. sc. Marijan Saraga, dr. med.; prim. Marija Meštrović, dr. med.; Ivanka Ercegović, mag. med. techn.; prof. dr. sc. Josip Grgurić, dr. med.; prof. dr. sc. Duško Mardešić, dr. med.; Mirjana Bogdanović; Meira Kraus, dr. med.; Dragica Beštak, mag. med. techn.; Elvira Laura, vms.

Organizacijski odbor

izv. prof. dr. sc. Bernarda Lozić, dr. med.; izv. prof. dr. sc. Ivana Unić, dr. med.; Tamara Tomić, bacc. med. techn.; Kristina Kužnik, mag. med. techn.; Biljana Mijač, bacc. med. techn.; dr. sc. Tanja Kovačević, dr. med.; Tatjana Čatipović Ardalić, dr. med.; doc. dr. sc. Željka Karin, dr. med.; Sanja Šolić, bacc. med. techn.; Saša Sršen, dr. med.; dr. sc. Davor Petrović, dr. med.; Ivana Čulo Čagalj, dr. med.; dr. sc. Marko Šimunović, dr. med.; Ivana Jukić, dr. med.; Danijela Veljačić, dr. med.; Marijan Batinić, dr. med.; Ana Skelin Glavaš, dr. med.; Mira Talaja, mag. med. techn.

Urednici suplementa

izv. prof. dr. sc. Branka Polić, dr. med.
izv. prof. dr. sc. Joško Markić, dr. med.

Mjesto održavanja kongresa

Hotel Radisson Blu Split

Glavni urednik / Editor-in-chief

Dr. sc. Slaven Abdović, dr. med., Zagreb

Uredništvo / Editorial team

Izabela Kranjčec, Monika Kukuruzović, Mario Mašić, Merima Čolić

Urednički odbor / Editorial board

Vojko Berce; Iva Bilić-Čače; Daniel Dilber; Katarina Dodig-Ćurković; Alenka Gagro; Iva Hojsak; Željka Karin; Mirjana Kolarek-Karakaš; Ivana Kolčić; Lavinia La Grasta Sabolić; Kristina Lah Tomulić; Bernarda Lozić; Joško Markić; Marko Mesić; Zrinjka Mišak; Tena Niseteo; Suzana Ožanić Bulić; Ivan Pavić; Daniela Petković-Ramadža; Zenon Pogorelić; Marija Posavec; Igor Prpić; Jasna Pucarín-Cvetković; Rebeka Ribičić; Đurđica Šešo Šimić; Marijana Šimić Jovičić; Martina Slukan; Ana Tripalo Batoš; Gorka Vuletić; Tamara Žigman

Tajnica uredništva / Secretary

Martina Nigović

Izdavač / Editor

KLINIKA ZA DJEČJE BOLESTI ZAGREB, KLAIĆEVA 16, ZAGREB

Paediatrica Croatica

Vol. 69 • Travanj/April 2025. • Supl/Suppl 2

SADRŽAJ / CONTENT

Branka Polić

Uvodnik / Editorial	1

Genetika / Genetics	2

Silvija Pušeljić, Nora Perić, Ema Kuna, Toni Maloč, Ivan Školka, Višnja Tomac, Nika Pušeljić, Luka Perić Dijagnostičke mogućnosti u kliničkoj genetici danas i kako tumačiti nalaz Diagnostic possibilities in clinical genetics today and how to interpret the findings	3

Petar Brlek, Dragan Primorac Whole Genome Sequencing and Artificial Intelligence in the New Era of Precision Pediatric Oncology Sekvenciranje cijelog genoma i umjetna inteligencija u novoj eri precizne pedijatrijske onkologije	12

Sanda Huljev Frković Racionalni pristup suvremenoj genetskoj dijagnostici Rational approach to modern genetic diagnostics	15

Maja Oroz, Feodora Stipoljev, Ana Mustapić, Tamara Vuk Uloga kodirajućih i nekodirajućih DNA regija u razvoju genetskih poremećaja The role of coding and non-coding dna regions in the development of genetic disorders	21

Ljubica Odak, Katarina Vulin, Ana-Marija Meašić, Adriana Bobinec, Leona Morožin Pohovski Sekvenciranje sljedeće generacije (NGS) u Klinici za dječje bolesti Zagreb – što smo do sada naučili? Next-generation sequencing (NGS) at the Children's Hospital Zagreb – what have we learned so far?	34

Bernarda Lozić, Marin Ogorevc, Tomislav Smoljo, Dora Knezović Cjeloezomsko sekvenciranje u kliničkoj primjeni – iskustvo Kliničkog bolničkog centra Split Whole-exome sequencing in clinical application – experience of the Clinical Hospital Center Split	36

Ljubica Odak, Katarina Vulin, Leona Morožin Pohovski, Ivona Sansović, Ana-Marija Meašić, Adriana Bobinec, Morana Mikloš Genomska dijagnostika neurorazvojnih poremećaja: trenutne mogućnosti i potencijal u budućnosti Genomic diagnostics of neurodevelopmental disorders: current opportunities and future potential	44

Romana Gjergja Juraški Genetski čimbenici i cerebralna paraliza Genetic factors and cerebral palsy	53

Kristina Crkvenac Gornik, Jadranka Škorput, Ana Juras, Sanda Huljev Frković Sekvenciranje nove generacije u dijagnostici monogenetskih poremećaja Next-generation sequencing in the diagnosis of monogenic disorders	61

Tamara Žigman, Ivan Tečer, Mihaela Bobić-Rasonja Kada ima smisla učiniti genetičku obradu u djece oboljele od malignih bolesti? When does it make sense to perform genetic testing in children with malignant diseases?	66

Todor Arsov, Carola G. Vinuesa Genetics and unexplained infant death: genomics in the courtroom Genetika i neobjašnjena smrt dojenčadi: genomika u sudnici	73

Ivona Sansović, Ana-Maria Meašić, Adriana Bobinec, Morana Mikloš, Ljubica Odak, Katarina Vulin Genetička etiologija oštećenja sluha u hrvatskoj kod osoba negativnih na varijante u GJB2 Genetic etiology of hearing loss in Croatia in individuals negative for GJB2 variants	83

Feodora Stipoljev, Maja Oroz, Tomislav Hafner, Ivanka Bekavac Vlatković, Damir Zudenigo, Ratko Matijević, Tamara Vuk, Ana Mustapić Dijagnostički prinos kromosomskog mikropostroja u prenatalnom otkrivanju genomskih poremećaja <i>Diagnostic contribution of comparative genomic hybridization on microarrays in prenatal detection of genomic disorders</i>		97
Mijana Kero Liječenje pacijenata s ahondroplazijom u Republici Hrvatskoj – prva iskustva i rezultati <i>Treatment of patients with achondroplasia in the Republic of Croatia – first experiences and results</i>		108
Maja Pavlović Retinoblastom <i>Retinoblastoma</i>		116
Biserka Knezić Frković Novosti u probiru prvog trimestra – može li NIPT zamijeniti rani kombinirani probir? <i>News in first trimester screening – can NIPT replace early combined screening?</i>		124
Dječja oftalmologija / Children's ophthalmology		127
Mirjana Bjeloš, Mladen Bušić, Ana Ćurić, Damir Bosnar, Borna Šarić, Biljana Kuzmanović Elabjer, Jurica Predović, Benedict Rak Pet godina genske terapije u hrvatskoj oftalmologiji – uspjesi, izazovi i perspektive <i>Five years of gene therapy in Croatian ophthalmology – successes, challenges and perspectives</i>		128
Kajo Bućan, Diana Bućan, Martina Paradžik Šimunović Kongenitalna katarakta <i>Congenital cataract</i>		131
Robert Stanić, Martina Paradžik Šimunović Infantilni glaukom – mogućnosti kirurškog liječenja <i>Infantile glaucoma – surgical treatment options</i>		136
Irena Marković, Ivona Bućan Elektrofiziologija oka u dijagnostici refrakcijskih anomalija u predškolskoj dobi <i>Electrophysiology of the eye in diagnosis of refractive anomalies in preschool children</i>		140
Darko Batistić, Ana Vučinović, Ante Krešo, Boško Jakšić Retinopatija nedonoščadi – suvremene smjernice, dijagnostika i liječenje <i>Retinopathy of prematurity – modern guidelines, diagnosis and treatment</i>		149
Ana Vučinović, Željana Matutinović Odak, Darko Batistić Komplikacije šećerne bolesti tip 1 na očima <i>Ocular complications of type 1 diabetes</i>		156
Siniša Skelin, Željana Matutinović Odak, Boško Jakšić Opstrukcija suznog puta u dojenčadi <i>Tear duct obstruction in infants</i>		159
Željana Matutinović Odak, Ana Vučinović Kratkovidnost u djece – dijagnostika i metode korekcije <i>Myopia in children – diagnosis and methods of correction</i>		163
Boško Jakšić, Siniša Skelin, Irena Marković Kako prepoznati strabizam u pedijatrijskoj ordinaciji i prevenirati slabovidnost <i>How to recognize strabismus in the pediatric office and prevent amblyopia</i>		168
Mirjana Bjeloš, Ana Ćurić, Mladen Bušić, Biljana Kuzmanović Elabjer, Benedict Rak, Katja Rončević Sjaj u tami: snaga crvenog refleksa <i>Catching the glow: the power of red reflex screening</i>		171
Mladen Bušić, Mirjana Bjeloš, Ana Ćurić, Biljana Kuzmanović Elabjer, Benedict Rak P(r)ogledajmo na vrijeme: prevencija ambliopije ranim otkrivanjem <i>Winning the battle: preventing amblyopia with early detection</i>		175
Mirjana Bjeloš, Ana Ćurić, Mladen Bušić, Biljana Kuzmanović Elabjer, Benedict Rak, Katja Rončević Sjaj u očima: razotkrivanje crvenog refleksa <i>Bright eyes ahead: mastering red reflex screening</i>		179

Reumatologija / Rheumatology	183
Ana Kozmar	
Značaj određivanja antinuklearnih antitijela	
<i>The importance of determining antinuclear antibodies</i>	184
Marijan Frković, Marija Jelušić	
Novosti u juvenilnom idiopatskom artritisu - što pedijatar treba znati	
<i>Novelties in juvenile idiopathic arthritis - what pediatricians need to know</i>	191
Mandica Vidović	
Nutritivni status, bol i umor u bolesnika s reumatskim bolestima	
<i>Nutritional status, pain and fatigue in patients with rheumatic diseases</i>	203
Marija Jelušić, Mario Šestan, Marijan Frković	
Novosti u dijagnostici i liječenju najčešćih sistemskih vaskulitisa dječje dobi	
<i>Novelties in the diagnosis and treatment of the most common systemic vasculitides in childhood</i>	214
Alenka Gagro	
Pedeset godina od otkrića interleukina 1: biologija, patogeneza i terapija	
<i>Fifty years since the discovery of interleukin 1: biology, pathogenesis and therapy</i>	228
Mario Šestan, Marijan Frković, Nastasia Kifer, Marija Jelušić	
Pristup u obradi djeteta s vrućicom nepoznatog uzroka	
<i>Diagnostic approach to a child with fever of unknown origin</i>	235
Saša Sršen	
Cijepljenje djece s upalnim reumatskim bolestima	
<i>Vaccination of children with inflammatory rheumatic diseases</i>	245
Kardiologija / Cardiology	252
Neven Čače	
Pristup liječenju kronične srčane insuficijencije u djece	
<i>Approach to the treatment of chronic heart failure in children</i>	253
Daniel Dilber, Dalibor Šarić, Dorotea Bartoniček, Marina Mihalec, Matija Bakoš, Dorotea Šijak, Viktor Ivanić	
Današnje mogućnosti intervencijskog liječenja srčanih grešaka	
<i>Interventional methods of treatment of pediatric cardiac defects</i>	263
Dalibor Šarić	
Nove smjernice o liječenju aortopatija dječje dobi	
<i>The new guidelines for the treatment and management of aortopathy in children</i>	268
Aleksandar Ovuka	
Bol u prsnoj koži	
<i>Chest pain</i>	279
Hrvoje Kniewald	
Prirođene srčane greške – do kada ih pratimo?	
<i>Congenital heart defects - how long do we monitor them?</i>	283
Nikola Krmek	
Pedijatrijska elektrofiziologija	
<i>Pediatric electrophysiology</i>	291
Davor Petrović	
Dijagnoza i konvencionalno liječenje supraventrikularne tahikardije u djece	
<i>Diagnosis and conventional treatment of supraventricular tachycardia in children</i>	298
Sanja Dorner	
Miokarditis i perikarditis u dječjoj dobi	
<i>Childhood myocarditis and pericarditis</i>	305
Vladimir Jegdić	
Od srčanog šuma do dijagnoze	
<i>From a heart murmur to a diagnosis</i>	317

Rajka Lulić Jurjević, Mladen Viljevac	
Važnost prenatalne dijagnostike prirođenih srčanih grešaka	
<i>The importance of prenatal diagnosis of congenital heart defects</i>	319
Vojislav Parezanović, Igor Stefanović, Dušan Andrić	
Preporuke za bavljenje sportom djece i adolescenata sa urođenim srčanim manama	
<i>Recommendations for competitive sports activities in children and adolescents with congenital heart defects</i>	327
Vesna Herceg-Čavrak	
Od pretilosti do hipertenzije: kako prevenirati kardiovaskularne bolesti u ranoj dobi	
<i>From obesity to hypertension: how to prevent cardiovascular diseases at an early age</i>	333
Maja Batinica	
Pregled aktualnosti iz pedijatrijske kardio-onkologije	
<i>Pediatric cardio-oncology - review of current state</i>	339
Slobodna tema / Free topic	347
Leida Tandara	
Od kapljice do rezultata: izazovi predanalitičke faze u pedijatriji	
<i>From a drop to the result: challenges of the pre-analytical phase in pediatrics</i>	348
In memoriam / In memoriam	352
Prof. dr. sc. Livio Balarin, dr. med. (1930.-2025.)	353
SPONZORI / SPONZORS	354

Poštovane i drage kolegice i kolege, medicinske sestre i tehničari,

čast mi je i veliko zadovoljstvo u ime Organizacijskog odbora pozvati vas na sudjelovanje u 41. Hrvatskoj proljetnoj pedijatrijskoj školi.

HPPŠ je trajni poslijediplomski tečaj I. kategorije s međunarodnim sudjelovanjem. Predavači su pozvani nastavnici hrvatskih i inozemnih medicinskih fakulteta, priznati stručnjaci za pojedina područja. HPPŠ je namijenjena specijalistima pedijatrije, školske i adolescentne medicine, svim liječnicima, specijalizantima, medicinskim sestrama i tehničarima te svim suradnim medicinskim strukama koje se bave zdravstvenom zaštitom djece.

Osnivači, prof. dr. sc. *Miro Juretić* i prof. dr. sc. *Livio Balarin*, su utemeljili bezvremenski koncept koji je razlogom dugogodišnjeg tradicionalnog održavanja Hrvatske proljetne pedijatrijske škole, a koji je svrstava među jedinstvene i prepoznatljive oblike edukacije, ne samo u Hrvatskoj, nego i izvan hrvatskih granica. Predavači su uvijek eksperti u pojedinim uže specijalističkim područjima što omogućava aktualnost i izvrsnost koja je nadasve zanimljiva svim sudionicima.

U programu ovogodišnjeg seminara su Genetika, Dječja oftalmologija, Kardiologija i reumatologija, uz uvodna predavanja tijekom otvaranja. Također, tradicija je da se tijekom tjedna održavanja upriliče sastanci Upravnog odbora Hrvatskog pedijatrijskog društva i Upravnog odbora Pedijatrijskog društva – Hrvatskog udruženja medicinskih sestara. Održavaju se i sastanci pojedinih sekcija, okrugli stolovi, tribine, sponzorirana predavanja te brojni sadržaji društvenog programa. Na taj način izmjenjuju se stručna iskustva i znanja uz nadasve prijateljsko ozračje.

Od srca vam želimo da ovaj tjedan u Splitu uživate ne samo u stručnom i znanstvenom radu HPPŠ već i u ovoj staroj rimskoj utvrdi, starijoj od 1700 godina.

Radujemo se Vašem dolasku i prijateljskom druženju

Uz srdačnu dobrodošlicu

Izv. prof. dr. sc. prim. Branka Polić
Voditeljica HPPŠ

Genetika

Genetics

Dijagnostičke mogućnosti u kliničkoj genetici danas i kako tumačiti nalaz

Silvija Pušeljić^{1,2,3}, Nora Perić^{1,2}, Ema Kuna^{1,2}, Toni Maloča^{1,3}, Ivan Školka^{1,3}, Višnja Tomac^{1,2}, Nika Pušeljić⁴, Luka Perić⁵

Razvojem medicinske genetike dolazi do njezine integracije u gotovo sve dijelove medicine, a klinička slika bolesti koje imaju genetski poremećaj većinom će se prepoznati u dječjoj dobi. Dio genetskih poremećaja mogu biti i u kategoriji rijetkih bolesti te je prepoznavanje „od fenotipa ka genotipu“ zbog velike kliničke heterogenosti izrazito složeno. Osim što unutar mutacije jednoga gena kliničke osobitosti mogu biti varijabilne, simptomi često nisu specifični, mijenjaju se ovisno o dobi djeteta, a fenotip čak i unutar iste obitelji može varirati. Kod većine bolesnika sa složenim poremećajima potreban je multidisciplinarni pristup, kombinacija većeg broja dijagnostičkih postupaka kako bi se utvrdile sve kliničke osobitosti bolesti što je dugotrajno i skupo. Kada se učini proširena klinička obrada, utvrde odstupanja i postavi dijagnostička sumnja, potrebno je odabrati neki od dijagnostičkih genetičkih testova za potvrdu dijagnoze jer potvrda genetske mutacije omogućuje postavljanje dijagnoze i predstavlja obično kraj dijagnostičke odiseje koja može u nekim slučajevima trajati i godinama. U svakodnevnom kliničkom radu složenost dijagnostike genetskih poremećaja proizlazi iz zaista velikog broja mogućih genetskih varijabilnosti, heterogenosti kliničke slike, ali i nedostatnog broja kliničkih genetičara te još uvijek manjak kliničkog iskustva uz ograničene dostupnosti genetičkog testiranja kod nas. Za učinkovitu primjenu starih i novih tehnologija genetičkog testiranja u svakodnevnom radu važno je dobro definirati kliničke indikacije i smjernice. Osim toga potrebna je i dobra multidisciplinarna suradnja između liječnika koji upućuje pacijenta na genetičku obradu, kliničkog genetičara kao i laboratorijskog medicinskog genetičara te liječnika specijalista pojedinih specijalnosti.

Ključne riječi: GENETIČKO TESTIRANJE; DIJETE; SEKVENCIRANJE NOVE GENERACIJE

UVOD

Završetak projekta ljudskog genoma početkom 2000. godine donio je nove spoznaje u razumijevanju naše genetske informacije te put za nove

inovativne tehnologije sekvenciranja i računalne metode koje su omogućile kliničku primjenu genomike. Sve to postupno povećava razumijevanje o tome kako geni rade i kako genetske promjene dovode do kliničke slike i razvoja bolesti. Od tada

¹Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Osijek, Josipa Huttlera 4, 31000 Osijek

²Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, J. Huttlera 4, 31000 Osijek

³Fakultet za odgojne i obrazovne znanosti, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 10, 31000 Osijek

⁴Zavod za hitnu medicinu Osječko baranjske županije, J. Huttlera 2, Osijek

⁵Zavod za onkologiju, Klinički bolnički centar Osijek, J. Huttlera 4, Osijek

do danas usavršavaju se tehnologije genetičkih testiranja što je dovelo do izrazitog porasta upotrebe genetičkih testova u kliničkoj praksi. Uz rastuće znanje o osnovnim konceptima genetskih bolesti, kao i razvoj novih i konstantno napredujućih tehnologija, posljedično neizbježno dolazi do novih etičkih, društvenih i pravnih implikacija. Ovakav razvoj tehnologije kao i novih genetskih informacija često navodi liječnike i pacijente na neopravdana očekivanja od genetičkog testiranja (1). Postoji mnogo različitih vrsta genetičkih testiranja, svaki ima svoje dosege no niti jedan ne može otkriti sva genetska stanja. Uz komercijalnu dostupnost sve većeg broja genetičkih testova potrebno je racionalno odlučiti u kojim slučajevima je genetički test nužan u dijagnostičkoj obradi. Sve postojeće i nove mogućnosti genetičkog testiranja otvaraju i novi niz etičkih, pravnih, emocionalnih, društvenih ili financijskih pitanja po prispjeću rezultata testa. U nekim slučajevima genetičko testiranje stvara napetost unutar obitelji jer rezultati mogu otkriti informacije kako o samom pacijentu, tako indirektno i o drugim članovima obitelji koji nisu izravno podvrgnuti testu (2). Dijagnostika genetskih bolesti temelji se na kliničkoj obradi, dijagnostičkoj sumnji i posljedično odabranoj adekvatnoj dijagnostičkoj metodi. U slučajevima kada je klinička slika nespecifična, primjerice mentalno zaostajanje ili nespecifični neurorazvojni poremećaj, potrebno je postaviti ispravnu indikaciju za genetičko testiranje te odabrati najbolju metodu za početak genetičke evaluacije stanja. Unatoč sada već vrlo preciznim genetičkim testovima i analizi deoksiribonukleinske kiseline (DNA) čak oko polovice genetskih bolesti ostaje i dalje otvorene etiologije (3). Značajan dio testiranja još uvijek se izvodi u inozemnim laboratorijima što zahtijeva i složene postupke za financiranje pretraga. Genska heterogenost bolesti zahtijeva prije odluke za genskom analizom temeljitu kliničku multidisciplinarnu obradu jer slična klinička slika u podlozi može biti povezana s mutacijama u više različitih gena. Svaki pacijent ima pravo zatražiti ili odbiti genetičko testiranje, iako klinički može postojati izravna korist za pacijenta. Važno je uzeti u obzir korist i rizike testa u kontekstu osobne i obiteljske situacije pacijenta, a odgovornost medicinskog genetičara je pružiti informacije kako bi pacijent mogao samostalno donijeti odluku (3).

Genetička testiranja ovisno o indikaciji

Genetička testiranja ovisno o indikaciji mogu biti: dijagnostička, prediktivna, određivanje statusa nositelja, probir u populaciji i farmakogenomsko testiranje. Posebna skupina testova su ona direktno ponuđena potrošaču.

Dijagnostičko testiranje je indicirano u osoba s izraženim kliničkim ili biokemijskim obilježjima potencijalnog genetičkog poremećaja, a cilj testiranja je potvrditi ili isključiti radnu dijagnozu. U svakodnevnoj kliničkoj praksi većina testova odnosi se na postavljanje dijagnoze što je važno za planiranje terapijskih opcija simptomatskih pacijenata, informiranje bolesnika kao i genetsko savjetovanje članova obitelji o genetskom poremećaju. Postavljanje dijagnoze omogućuje određivanje rizika ponovnog javljanja bolesti unutar obitelji kao i donošenje reproduktivnih odluka (4).

Prediktivno testiranje odnosi se na testiranje asimptomatskih osoba s pozitivnom obiteljskom anamnezom za određeni genetski poremećaj čiji je cilj utvrditi genski status prije pojave simptoma i znakova bolesti zbog izračuna rizika za razvoj bolesti. Ishod prediktivnog testiranja važan je prilikom odabira intervencija ili terapija koje smanjuju morbiditet/mortalitet, informiranja o poremećaju te donošenja reproduktivnih odluka.

Presimptomatsko i prediktivno genetičko testiranje odnosi se na testiranje asimptomatskih osoba s pozitivnom obiteljskom anamnezom, a dostupno je za niz nasljednih genetskih poremećaja. Presimptomatsko se odnosi na one bolesti kod kojih će pozitivan rezultat testa neizbježno dovesti do razvoja bolesti kasnije u životu (npr. Huntingtonova bolest (HD)); dok se prediktivno odnosi na širi raspon bolesti kod kojih je rizik od razvoja bolesti povećan, ali ne podrazumijeva nužno da će se bolest i razviti (npr. nasljedni oblici malignih bolesti). Nerijetko se ovi pojmovi koriste nepravilno (5).

Određivanje statusa nositelja indicirano je u asimptomatskih osoba koje imaju pozitivnu obiteljsku anamnezu određenog recesivnog genskog poremećaja ili balansiranih strukturnih kromosomskih aberacija. Cilj je utvrđivanje recesivnih mutacija u heterozigotnom obliku ili balansiranih kromosomskih aberacija, a važno je za informiranje pacijenata o rizicima za potomstvo (6).

Probir u populaciji vrsta je testiranja i oblik javnozdravstvenog programa koji se sustavno nudi specifičnoj populaciji asimptomatskih pojedinaca kako bi se identificirale visokorizične osobe za određenu bolest. Cilj je otkrivanje genetskih poremećaja čiji se simptomi i znakovi pravovremenom intervencijom mogu odgoditi, spriječiti ili liječiti. Za provođenje probira koristi se niz različitih molekularnih, biokemijskih i drugih metoda kojima se procjenjuje rizik nasljeđivanja predispozicije za bolest, rizik prijenosa bolesti na potomstvo ili se otkriva naslijeđena bolest u ranom stadiju. Probir u populaciji može biti nereproduktivni kao što je to novorođenački probir i probir nositelja u rizičnim populacijama. Reprodukativni može biti prekonceptijski i prenatalni (7).

Farmakogenomsko testiranje ima sve veći značaj u kliničkoj medicini jer na učinak lijeka ne utječu samo klinički i okolišni čimbenici, nego i genske varijabilnosti. Varijacije u sekvenci DNA pojedinca utječu na farmakokinetiku i farmakodinamiku lijeka. Primjenjuje se kod asimptomatskih osoba koje planiraju uzimati neki lijek ili simptomatskih osoba koje ne odgovaraju primjereno na lijek. Spoznaja interakcija između lijeka i gena može pomoći u propisivanju lijeka koje je prilagođeno pojedincu, a ima svrhu otkrivanja načina odgovora organizma na određene lijekove, izbjegavanje nuspojava i prilagođavanje doze. Važno je napomenuti da rezultati testiranja mogu razjasniti neke, ali ne i sve varijabilnosti u odgovoru na lijek i trebaju biti promatrani u kontekstu s ostalim čimbenicima (8).

Genetičko testiranje neposredno ponuđeno potrošaču (DTC, engl. *direct to consumer testing*) odnosi se na testiranje koje se oglašava i nudi izravno potrošačima izvan mreže zdravstvenog sustava. Testovi su dostupni u izravnoj prodaji, a reklamiraju se kao metoda s pomoću koje pacijenti mogu preuzeti kontrolu nad vlastitim zdravljem i istražiti rizik od bolesti i stanja, kao i istražiti svoje podrijetlo. Opseg prakse ovih tvrtki nastavlja se širiti nudeći sve više usluga, a potrošači nerijetko slabo razumiju usluge koje se pružaju pri kupnji ovih proizvoda. Ponuđena genska analiza provodi se najčešće bez usluge genetičkog savjetovanja i mogućnosti specijalizirane individualne interpretacije nalaza. Trenutačno postoji raznolik izbor DTC genetičkih testova koji se nude kao što su testovi za monogenske i složene bolesti, neinvazivni prenatalni testovi, testovi podrijetla, nu-

trigenomski testovi, farmakogenomski testovi itd. (9).

METODE GENETIČKOG TESTIRANJA U KLINIČKOJ PRAKSI DANAS

Kariotipizacija i komparativna genomska hibridizacija na mikropostroju

Od siječnja 1959. godine kada je objavljen prvi rad kojim se opisuje dodatni mali kromosom u kulturi fibroblasta nekoliko djece s Downovim sindromom, započinje razvoj citogenetskih metoda u humanoj genetici. Trebalo je nešto više od 10 godina, kada početkom 70-ih godina počinje razvoj tehnika pruganja kromosoma koje su omogućile točnu identifikaciju svakog pojedinog kromosoma čovjeka. Implementacija tehnika pruganja kromosoma i napredak na području kulture stanica omogućili su identifikaciju i karakterizaciju numeričkih i mikroskopski vidljivih strukturnih kromosomskih aberacija (10). Trenutačno postoji tendencija da se metode klasične citogenetike stavljaju u drugi plan te da ih zamijene nove molekularne genetičke tehnologije, no citogenetske metode i dalje imaju značajno mjesto u kliničkoj praksi kod dijagnosticiranja kromosomskih sindroma s anomalijama i dismorfijom, uz poznavanje ograničenja klasične citogenetike (11).

Danas u kliničkoj praksi kariotipizacija u prvom redu služi za dijagnostiku kromosomopatija, kako onih koji se fenotipski mogu prepoznati (Down, Patau, Edwards sindrom) tako i onih aneuploidija i poliploidija te većih strukturnih aberacija (veće od 5 - 7,5 Mb): delecije, duplikacije, insercije, balansirane i nebalansirane translokacije koje na temelju fenotipa ne daju tipičnu kliničku sliku. Kada su posrijedi razni oblici neurorazvojnih poremećaja, citogenetski vidljive kromosomske aberacije otkrivaju oko 6 - 7 % slučajeva poremećaja iz spektra autizma, a ukoliko je isti udružen s dismorfijom ili intelektualnim zaostajanjem postotak je tek nešto viši. U invazivnoj prenatalnoj dijagnostici kariotipizacija je i dalje temeljna pretraga kojom se započinje dijagnostika kod sumnje na razvojne mane ploda (12).

Novi iskorak u dijagnostici genomskih aberacija započinje sredinom 90-ih kada se postupno usa-

vršavaju tehnike biočipova koje omogućavaju analizu čitavog genoma na višak odnosno manjak specifičnih DNA sekvenci. Tehnička osnova biočipova, komparativne genomske hibridizacije na mikropostroju (aCGH, engl. *array Comparative Genomic Hybridization*) razvijena je 1997. godine (13). Usavršavanjem tehnologije biočipova omogućeno je dizajniranje čipova s oligonukleotidnim sekvencama za skrining čitavog genoma (14). Metoda molekularne kariotipizacije, u usporedbi s klasičnom kariotipizacijom, ima svakako bolju rezoluciju, daje veću sigurnost pri interpretaciji rezultata jer izostaje subjektivnost očitavanja te je skraćeno vrijeme analize jer je omogućena automatizacija cijelog postupka. Danas su dostupne različite platforme za detekciju suptilnih submikroskopskih promjena broja kopija DNA sekvence znatno manje rezolucije od 1 Mb. Ograničenje ove metode je nemogućnost otkrivanja balansiranih kromosomskih preuređenja (translokacije i inverzije), povećanja broja ponavljanja tripleta, mutacija u mitohondrijskoj DNA, epigenetskih promjena te mozaicizama s udjelom abnormalnih stanica manjim od 10 – 30 % (15). Za kliničku praksu važno je znati da aCGH metodom u nalazu možemo otkriti varijaciju broja kopija (engl. *copy number variation* – CNV). Interpretacija tih rezultata veliki je izazov jer većina otkrivenih CNV-ova mogu biti benigne varijacije koje su prisutne u normalnoj populaciji, no dio takvih varijacija mogu biti i patološke. Prilikom interpretacije rezultata važno je dobro definirati kliničku sliku, fenotip, pripadajuće komorbiditete te pregledati postojeće baza podataka, u kojima se redovito skupljaju novi klinički fenotipovi (16). Također u obzir treba uzeti mogućnost slučajnih nalaza, npr. CNV-ova povezanih s predispozicijom za onkološke bolesti koji se nalaze u otprilike 0,2 % analiza ili CNV regija povezanih s neplodnošću (15). Molekularna kariotipizacija danas se uobičajeno koristi u kliničkoj praksi, a mnogi znanstveni radovi potvrdili su iznimnu važnost primjene aCGH tehnike kod pacijenata s nejasnim neurorazvojnim odstupanjima. Ovom metodom moguće je utvrditi etiologiju u oko 10 – 20 % bolesnika s neurorazvojnim poremećajima (17, 18). Prednost aCGH analize u usporedbi s metodama sekvenciranja je šira dostupnost metode u kliničkim laboratorijima te znatno jednostavnija i brža interpretacija rezultata uslijed detekcije malog broja varijanti koje je potrebno

klasificirati. Za sada se aCGH smatra početnom metodom izbora u dijagnostici neurorazvojnih poremećaja, no u slučaju negativnog nalaza, a pod pretpostavkom genetičke etiologije bolesti, dijagnostika se nastavlja nekom od metoda sekvenciranja – sekvenciranja novih generacija ili masivnog paralelnog sekvenciranja (15, 17, 18).

METODE SEKVENCIRANJA NOVE GENERACIJE

Genetičko testiranje nove generacije sekvenciranja (NGS, engl. *Next-generation Sequencing*) moćan je dijagnostički alat i sve se više koristi u kliničkoj obradi pacijenata, posebno u nejasnim kliničkim prezentacijama ili kada pozitivna obiteljska anamneza sugerira nasljednu bolest. Tehnologije sekvenciranja nove generacije, metode masivnog paralelnog sekvenciranja omogućile su sekvenciranje cijelog genoma u jednom genetičkom testu. Postoji nekoliko razina NGS-a koje se danas koriste: testiranje genskih panela podrazumijeva da se obično analizira skup od oko 20 – 200 gena koji su bitni za neko kliničko područje, a danas je dostupno oko 220 različitih panela koji pokrivaju 14 različitih područja kliničke medicine. Sekvenciranjem kliničkog egzoma (CES, engl. *Clinical Exome Sequencing*) analiziraju se sekvence svih gena koji su povezani s poznatim kliničkim fenotipovima. Metodom sekvenciranja cijelog egzoma (WES, engl. *Whole Exome Sequencing*) analiziraju se protein-kodirajuće regije koje obuhvaćaju oko 1,5 – 2 % čitavog genoma, u svih približno 20 500 poznatih ljudskih gena jer je najveći udio genskih bolesti uzrokovan upravo mutacijama u kodirajućim sekvencama. Sekvenciranje cijelog genoma (WGS, engl. *Whole Genom Sequencing*) analizira 95 – 98 % cjelokupne ljudske DNA bez ikakve prethodne selekcije (3, 15, 19).

Ciljane analize gena i genski paneli

Analiza ciljanih gena olakšava i ubrzava analizu uslijed manjeg broja varijanti koje je potrebno klasificirati te smanjuje mogućnost nalaza slučajnih varijanti nepoznatog značenja (VUS, engl. *variant of variant of unknown significance*). Ovo je najisplativija upotreba NGS-a koja uskom selekcijom gena postiže izvrsnu dubinu čitanja. Sve veće i dublje razumijevanje genetske osnove različitih nasljednih bolesti pomoglo je u sve boljem odabi-

ru prikladnih gena za uključivanje u NGS panele (20). Niz znanstvenih i stručnih društava angažirani su na proučavanju odnosa i povezanosti gena i bolesti. Podaci proizašli iz takvih znanstvenih suradnji mogu se primijeniti u odabiru gena za uvrštavanja u pojedini genski panel za pojedinu indikaciju. Takva je baza i Gene Curation Coalition (GenCC), formirana u veljači 2018. godine, koja prikuplja i dijeli podatke grupa i istraživača uključenih u proučavanje povezanosti gena i bolesti. GenCC baza podataka pokrenuta je u prosincu 2020. godine, konceptualno, sličan resurs kao ClinVar, ali za tvrdnje o genetskim bolestima umjesto za tvrdnje o varijantama bolesti. Trenutačno baza podataka ima 15 241 dostavljenu klasifikaciju na 4 569 gena. Ova baza za svaki gen koristi srednju vrijednost za povezanost gena i bolesti (CLOE, engl. *consensus Level of Evidence*) što je rezultiralo klasifikacijskim sustavom u kojem se pojedini gen definira kao prikladan za uključivanje u panel za povezanu bolest (21). Fokusiranom analizom gena s poznatom korelacijom s bolešću izbjegava se otkrivanje varijanti u genima s nesigurnom povezanošću s fenotipom pacijenta (22). Unatoč tome, različiti laboratoriji koriste različito sastavljene panele, pa i kombinacije genskih panela, pri čemu neki od uključenih gena mogu imati slabe ili vrlo male dokaze o povezanosti s ciljanom bolesti. Takva širina može dati uvid u nove varijante uzroka bolesti ukoliko je u NGS analizu uključeno više gena, no tada je i češće otkrivanje VUS-a ili varijante u genima koje nisu povezane s indikacijom radi koje je upotrijebljen panel, što stvara nove kliničke dileme (23).

Sekvenciranje kliničkog egzoma (CES) ili cijelog egzoma (WES)

Sekvenciranje kliničkog egzoma (CES) ili ciljano sekvenciranje egzoma metodološki je oblik WES-a no pokriva ograničen broj gena, obično 3000 do 6000, kojim se analiziraju sekvence onih gena koji su dobro povezani s poznatim kliničkim fenotipovima. CES obično kreiraju ili same biotehnoške tvrtke ili NGS laboratoriji kako bi bioinformatička obrada i interpretacija nalaza bili lakši. Podskup gena za CES odabran je na temelju različitih studija o povezanosti bolesti, učestalosti mutacija u tim genima i definiranih fenotipova. Popis gena povezanih s bolestima svaki se tjedan proširuje novim istraživanjima i publikacijama, stoga i po-

stoje varijacije u skupu gena za CES u različitim laboratorijima. CES je u odnosu na WES relativno jeftiniji i lakši za laboratorije, no moramo znati da ovim testom ostaju nepokriveni geni/regije koji također mogu biti od važnosti za promatrano stanje (24). Sekvenciranje cijelog egzoma (WES) dovelo je do ogromnog napretka u spoznavanju etiologije mnogih genetskih bolesti. WES metodom analiziraju se protein-kodirajuće regije koje obuhvaćaju oko 1,5 % – 2 % čitavog genoma, u svih približno 20 500 poznatih ljudskih gena, jer je najveći udio genskih bolesti uzrokovan upravo mutacijama u kodirajućim sekvencama, poboljšavajući ne samo dijagnostički proces, već ga čineći bržim i učinkovitijim (25). WES se trenutačno smatra tehnologijom izbora za dijagnosticiranje monogenetskih poremećaja. Izazov implementacije WES-a u rutinskoj kliničkoj praksi je izdvojiti patogene varijante među milijunima varijanti nepoznatog/nesigurnog značaja i benignih varijanti. Unatoč brojnim studijama koje pokazuju učinkovitost WES-a u postavljanju molekularne dijagnoze, patogene varijante općenito se identificiraju u manje od 50 % pacijenata kod primjerice genetskih neuroloških poremećaja. Može postojati nekoliko razloga zašto WES ne identificira genetske uzroke, od kojih su neki tehničke naravi, kao što su primjerice prisutnost genomskih regija koje je teško sekvencirati (kao što su segmenti DNA s visokim sadržajem gvanina i citozina, engl. *GC-rich sequence*). Neke varijante, kao što strukturne varijacije, još uvijek je teško identificirati s pomoću tehnologije kratkog čitanja. Osim toga, WES neće otkriti varijante koje se pojavljuju u ne-kodirajućim sekvencama. Izuzetak su one intronske varijante koje su smještene unutar nekoliko nukleotida od mjesta prekranja (26).

Sekvenciranje cijelog genoma (WGS)

Cjelogenomsko sekvenciranje (WGS) uključuje fragmentiranje i sekvenciranje cijelog genoma bez prethodnog odabira specifičnih sekvenci DNA, analizirajući pri tom genske varijante kodirajućih, ali i intronskih i nekodirajućih regija. Tehnološki WGS-a postaje moguć oko 2010. godine, a Američka uprava za hranu i lijekove (FDA, engl. *Food and Drug Administration*) odobrila ga je za kliničku upotrebu 2018. godine (27). S obzirom na široku pokrivenost, u usporedbi s WES metodom, WGS ima veću osjetljivost te ujednačenu pokriva-

nost genoma. WGS detektira više varijanti ne samo u velikim nekodirajućim dijelovima genoma već i u egzonima zbog puno bolje kvalitete mapiranja (28). WGS za razliku od WES-a prepoznaje varijacije broja kopija i strukturne preraspodjele (29). Aktualno WGS zahtijeva složenu računalnu infrastrukturu kako bi se osigurala brza i pouzdana obrada podataka jer analize panela i WES primjerice generiraju oko 0,15 GB i 5 GB neobrađenih podataka, rezultat WGS analize je oko 30 GB (27).

IZAZOV IMPLEMENTACIJE GENETIČKIH TESTIRANJA I SEKVENCIRANJA NOVE GENERACIJE U KLINIČKU PRAKSU

Genetička testiranja sve više se upotrebljavaju u kliničkoj praksi od obrade primjerice neurorazvojnih poremećaja u dječjoj dobi do onkogenetike kod odraslih i djece. Uključivanje svih dobnih skupina i ekspanzija kliničkih indikacija za genetičko testiranje doveli su do povećane potražnje za genetičkim testovima i naručivanja tih testova od strane liječnika bez formalne obuke iz genetike (30). Povećana potražnja za testiranjem posljedica je i brzog napretka genomske tehnologije što rezultira povećanom složenošću opcija genetičkog testiranja za kliničare (31). Izazovi implementacije klasičnih genetičkih testiranja, kao i metoda sekvenciranja nove generacije u kliničku praksu postoje na više razina: dostupnost i cijena pojedine metode, primjena i analiza nalaza u kliničkoj praksi, ograničen broj specijalista medicinske genetike (26). Ključni element u probiru indeksnih bolesnika prije testiranja temeljita je analiza fenotipa, a drugi je element precizna obiteljska anamneza i obiteljsko stablo koji obuhvaćaju najmanje tri generacije, uz pretpostavljanje mogućih obrazaca nasljeđivanja i penetracije te procjenu mogućnosti kaskadnog testiranja za srodnike. Uloga genetičara i kliničara pojedinih specijalnosti ključna je u fazi prije genetičkog testiranja te se sastoji u pravilnom probiru pacijenata, identifikaciji fenotipa, postavljanju indikacije za genetičko testiranje te formulaciji adekvatnog kliničkog upita. Ciljevi genetičkog testiranja su identificirati bolest i/ili potvrditi kliničku dijagnozu, omogućiti individualizirani terapijski pristup i po potrebi indicirati testiranje varijanti unutar obitelji bolesnika

(32). Pogrešno tumačenje rezultata može u konačnici imati značajne posljedice, uključujući netočne dijagnoze, nepotrebne tretmane i intervencije, povećani psihosocijalni stres za pacijente i njihove obitelji, a ponekad i promašene dijagnoze što može imati ozbiljne posljedice (33).

Miller i sur. su 2010. godini predložili smjernice za genetsku dijagnozu pacijenata s razvojnim kašnjenjem, mentalnim zaostajanjem ili kongenitalnim anomalijama predlažući aCGH kao prvu razinu kliničke dijagnostike (34), a 2021. godine Američko društvo za medicinsku genetiku i genomiku (ACMG, engl. *American College of Medical Genetics*) izdaje nove preporuke koje sugeriraju primjenu NGS-a kao test prve ili ponekad druge linije obrade (35). Unatoč izrazitom napretku genetičkog testiranja i dalje više od 50 % rijetkih genetskih bolesti nema genetsku dijagnozu (26). Smjernice za tumačenje varijanti koje se koriste za klasifikaciju promjena u genetskoj dijagnostici izdane su 2015. godine u suradnji ACMG, Američkog društva za molekularnu patologiju (AMP, engl. *Association for Molecular Pathology*) i Američkog društva patologa (CAP, engl. *College of American Pathologists*). Ove su smjernice uspostavile kriterije klasifikacije koji predstavljaju različite stupnjeve dokaza patogenosti pojedine mutacije tako da se, kroz algoritam koji je koristio kombinaciju kriterija, varijante mogu klasificirati kao patogene (P, engl. *pathogenic*), vjerojatno patogene (LP, engl. *likely pathogenic*), s nepoznatim kliničkim značajem (VUS, engl. *variant of uncertain significance*), vjerojatno benigni (LB, engl. *likely benign*) ili benigni (B, engl. *benign*). Ipak, primjena ovog algoritma nije spriječila porast VUS-a (36). Trenutačno postoji više alata uključenih u klasifikaciju varijanti: baze podataka genomskih varijanti koje prijavljuju varijante gena s informacijama o njihovoj kliničkoj uključenosti ili bibliografskim izvorima u kojima se spominju (ClinVar, dbSNP, HGMD, LOVD, DGV, itd.); prediktivni programi ili *in silico* studije koji uključuju važnost izmjene i na razini nukleotida i na razini aminokiselina (PolyPhen2, SIFT, Alamut, GeneSplicer, Human Splice Finder, REVEL i dr.); procjena učestalosti varijante u kontrolnoj populaciji, to su baze podataka o sekvenciranju egzoma i genoma iz raznih velikih projekata sekvenciranja (gnomAD 7, ESP); softvereri za podršku odlučivanju koji integriraju informacije iz nekoliko baza podataka i kombiniraju ih kako bi

izvršili klasifikaciju prema kliničkim smjernicama (Franklin, Varsome, GeneBe) (26). S kliničkog stajališta, VUS-evi očito predstavljaju dilemu jer njihova uzročna uloga u pojedinoj bolesti nije do kraja utvrđena. Neki tvrde da VUS treba jednostavno eliminirati iz analize (37) i pričekati daljnju procjenu, dok drugi naglašavaju rizik ostavljanja bolesnika bez dijagnoze ako se klinički relevantan VUS zanemari. Broj VUS-eva vjerojatno će se smanjiti s vremenom kada baze podataka prikupe više podataka i naše razumijevanje patogeneze bolesti se poboljša. Trenutačno ne postoje definitivne smjernice za sve kliničke situacije, stoga su zdrav razum i kliničko iskustvo važni (27). S povećanjem dijagnostičkog sekvenciranja i identifikacije novih gena za bolesti, broj VUS-eva koje je potrebno razmotriti će se povećati. Posljedično, veliki je fokus na *in silico*, *in vitro* i *in vivo* analizama kako bi se bolje razumjelo značenje ovih varijanti (37). Mnoge je varijante teško klasificirati kao benigne ili patogene, npr. nove *missense* varijante, nove pretpostavljene varijante prekrajanja s nedokazanim učinkom na razini ribonukleinske kiseline, stoga se te varijante ne bi trebale koristiti u donošenju kliničkih odluka, osim ako se kasnije reklasificiraju. *Missense* varijante imaju različite učinke na funkciju proteina, u rasponu od gubitka funkcije proteina zbog ozbiljne nestabilnosti, do toga da nema jasno vidljivih učinaka, a tumačenje njihove patogenosti je izazovno (26). Osim svega navedenog uvođenje sekvenciranja cijelog genoma dovodi do ogromnih genetskih podataka, pa pacijenti koji se podvrgnu genetičkom testiranju mogu spoznati da imaju varijante gena koje nisu povezane s bolešću zbog kojih su testirani. Neki od ovih nalaza mogu ukazivati na trenutačno asimptomatsko stanje koje za neko vrijeme može ili ne mora dati jasnu bolest, nalazi mogu dati spoznaju nositeljstva za određene poremećaje, ili mogu biti korisni za prevenciju i liječenje drugih potencijalnih bolesti (38).

ZAKLJUČAK

U posljednjem desetljeću, genetičko testiranje postalo je ključan dijagnostički i prognostički alat koji omogućuje dublji uvid u kompleksne mehanizme nastanka bolesti. Nakon početnog otkrića i velikih očekivanja često slijedi razdoblje rasprava prije nego što prednosti novih tehnologija postanu očite. U vremenu kada je NGS implementiran

u kliničku praksu nedvojbeno će biti potrebno prvenstveno adekvatna edukacija i obrazovanje novih kliničkih genetičara kako bi se moglo pratiti brzorastuće tržište novih metoda u dijagnostici genetskih poremećaja kao i njihovu potražnju u kliničkoj praksi. Ove nove spoznaje i znanje treba promatrati kao priliku, a ne kao problem i potaknuti nas da povećamo naše napore da još dublje razumijemo patologiju bolesti i genetiku. Jedan je od najvažnijih ciljeva poboljšati tumačenje dobivenih nalaza, a to će zahtijevati integraciju kliničkih podataka, funkcionalnih studija, populacijskih baza podataka i opsežno dijeljenje podataka i razvoj računalnih alata. Uz genetsku dijagnozu bolesti, pacijenti bi trebali dobiti sve informacije vezane uz kliničku sliku bolesti, rizik genetskog obrasca nasljeđivanja bolesti, mogućnost recidiva, dostupne testove, ograničenja reproduktivnih mogućnosti, kao i naknadne reevaluacije nalaza, ukoliko bude bilo potrebno. U perspektivi svakako WGS podatke treba dodatno integrirati s transkriptomikom, epigenomikom i proteomikom, kako bi se omogućilo sveobuhvatnije razumijevanje mehanizama bolesti. Kombinacijom više različitih genomskih informacija kliničari će moći identificirati funkcionalne varijante, regulatorne elemente kao i putove povezane s bolestima što bi trebalo omogućiti točniju dijagnozu i ciljano liječenje.

LITERATURA

1. Yoo HW. Genetic testing in clinical pediatric practice. *Clin Exp Pediatr*. 2010;53(3):273–85.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Genetic testing [Internet]. Atlanta (GA): CDC; 2024. Available from: <https://www.cdc.gov/genomics-and-health/counseling-testing/genetic-testing.html>.
3. Peterlin B, Maver A. Primjena sekvenciranja nove generacije u pedijatrijskoj dijagnostici. *Paediatr Croat*. 2016; 60(Suppl 1):70–1.
4. McPherson E. Genetic diagnosis and testing in clinical practice. *Clin Med Res*. 2006;4(2):123–9. doi: 10.3121/cmr.4.2.123.
5. Godino L, Turchetti D, Jackson L, Hennessy C, Skirton H. Impact of presymptomatic genetic testing on young adults: a systematic review. *Eur J Hum Genet*. 2016;24 (4):496–503. doi: 10.1038/ejhg.2015.181.
6. Cariatì F, D'Argenio V, Tomaiuolo R. Innovative technologies for diagnosis and screening of genetic diseases in antenatal age. *J Lab Precis Med*. 2020;5. doi: 10.21037/jlpm-20-98.
7. Barišić I. Aktualne teme u genetičkom informiranju. *Paediatr Croat*. 2016;60:24–30.

8. Youssef E, Kirkdale CL, Wright DJ, Guchelaar HJ, Thornley T. Estimating the potential impact of implementing pre-emptive pharmacogenetic testing in primary care across the UK. *Br J Clin Pharmacol*. 2021;87(7):2907–25. doi: 10.1111/bcp.14689.
9. Panacer KS. Ethical issues associated with direct-to-consumer genetic testing. *Cureus*. 2023;15(6):e39964. doi: 10.7759/cureus.39964.
10. Ferguson-Smith MA. History and evolution of cytogenetics. *Mol Cytogenet*. 2015;8:19. doi: 10.1186/s13039-015-0132-0.
11. Rodríguez L, Barros E, Skaarup Murray J. Sometimes karyotype resolves the case! *Front Genet*. 2024;15:1. doi: 10.3389/fgene.2024.1298743.
12. Marshall CR, Noor A, Vincent JB, et al. Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet*. 2008;82(2):477–88. doi: 10.1016/j.ajhg.2007.12.009.
13. Pinkel D, Segraves R, Sudar D, et al. High-resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet*. 1998; 20(2):207–11. doi: 10.1038/2524.
14. Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001;409 (6822):860–921. doi: 10.1038/35057062.
15. Stipoljev F, Oroz M, Vičić A. Genomski dijagnostički algoritmi u obiteljima s djecom s neurorazvojnim poremećajima. *Liječ Vjesn*. 2023;145(Suppl 1):256–63.
16. Lovrečić L, Peterlin B. Molekularna kariotipizacija – nov pristup u kliničkoj i laboratorijskoj genetici. *Med Flum*. 2014;50(2):181–7.
17. Jezkova J, Heath J, Williams A, et al. Exon-focused targeted oligonucleotide microarray design increases detection of clinically relevant variants across multiple NHS genomic centres. *NPJ Genom Med*. 2020;5:28. doi: 10.1038/s41525-020-00139-2.
18. Kucińska A, Hawuła W, Rutkowska L, et al. The use of CGH arrays for identifying copy number variations in children with autism spectrum disorder. *Brain Sci*. 2024;14(3):273. doi: 10.3390/brainsci14030273.
19. Gorcenko S, Ilinca A, Almasoudi W, Kafantari E, Lindgren AG, Puschmann A. New generation genetic testing entering the clinic. *Parkinsonism Relat Disord*. 2020;73:72–84. doi: 10.1016/j.parkreldis.2020.02.008.
20. Saudi Mendeliome Group. Comprehensive gene panels provide advantages over clinical exome sequencing for Mendelian diseases. *Genome Biol*. 2015;16:134. doi: 10.1186/s13059-015-0701-3.
21. DiStefano MT, Goehringer S, Babb L, et al. The Gene Curation Coalition: A global effort to harmonize gene-disease evidence resources. *Genet Med*. 2022;24(8):1732–42. doi: 10.1016/j.gim.2022.05.009.
22. Musunuru K, Hershberger RE, Day SM, et al. Genetic testing for inherited cardiovascular diseases: a scientific statement from the American Heart Association. *Circ Genom Precis Med*. 2020;13(4):e000067. doi: 10.1161/HCG.0000000000000067.
23. Papadopoulou E, Bouzarelou D, Tsaousis G, et al. Application of next-generation sequencing in cardiology: current and future precision medicine implications. *Front Cardiovasc Med*. 2023;10:1202381. doi: 10.3389/fcvm.2023.1202381.
24. Artech-López A, Ávila-Fernández A, Riveiro Álvarez R, et al. Five years' experience of clinical exome sequencing in a Spanish single center. *Sci Rep*. 2022;12:19209. doi: 10.1038/s41598-022-23994-2.
25. Marshall CR, Chowdhury S, Taft RJ, et al.; Medical Genome Initiative. Best practices for the analytical validation of clinical whole-genome sequencing intended for the diagnosis of germline disease. *NPJ Genom Med*. 2020;5:47. doi: 10.1038/s41525-020-00143-6.
26. Alvarez-Mora MI, Rodríguez-Revenga L, Jodar M, et al. Implementation of exome sequencing in clinical practice for neurological disorders. *Genes (Basel)*. 2023;14(4):813. doi: 10.3390/genes14040813.
27. Bagger FO, Borgwardt L, Jespersen AS, et al. Whole genome sequencing in clinical practice. *BMC Med Genomics*. 2024;17(1):39. doi: 10.1186/s12920-024-01602-0.
28. Wright CF, Campbell P, Eberhardt RY, et al. Genomic diagnosis of rare pediatric disease in the United Kingdom and Ireland. *N Engl J Med*. 2023;388(17):1559–71. doi: 10.1056/NEJMoa2209205.
29. Palmer EE, Sachdev R, Macintosh R, et al. Diagnostic yield of whole genome sequencing after nondiagnostic exome sequencing or gene panel in developmental and epileptic encephalopathies. *Neurology*. 2021;96(13):e1770–82. doi: 10.1212/WNL.00000000000011654.
30. Goodman DM, Lynm C, Livingston EH. Genomic medicine. *JAMA*. 2013;309(14):1544. doi: 10.1001/jama.2013.3243.
31. Rubanovich CK, Cheung C, Mandel J, Bloss CS. Physician preparedness for big genomic data: a review of genomic medicine education initiatives in the United States. *Hum Mol Genet*. 2018;27(R2):R250–8. doi: 10.1093/hmg/ddy167.
32. Donohue KE, Gooch C, Katz A, Wakelee J, Slavotinek A, Korf BR. Pitfalls and challenges in genetic test interpretation: an exploration of genetic professionals' experience with interpretation of results. *Clin Genet*. 2021;99(5):638–49. doi: 10.1111/cge.13944.
33. Mahon SM. Coordination of genetic care: more important and complicated than it seems. *J Natl Compr Canc Netw*. 2019;17(11):1272–6. doi: 10.6004/jncn.2019.7343.
34. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*. 2010;86(5):749–64. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.04.006.

35. Manickam K, McClain MR, Demmer LA, et al.; ACMG Board of Directors. Exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability: an evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2021;23(11):2029–37. doi: 10.1038/s41436-021-01242-6.
36. Richards S, Aziz N, Bale S, et al.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405–24. doi: 10.1038/gim.2015.30.
37. Rehm HL, Alaimo JT, Aradhya S, et al.; Medical Genome Initiative Steering Committee. The landscape of reported VUS in multi-gene panel and genomic testing: time for a change. *Genet Med.* 2023;25(12):100947. doi: 10.1016/j.gim.2023.100947.
38. Miller DT, Lee K, Gordon AS, et al.; ACMG Secondary Findings Working Group. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2021 update: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2021;23(8):1391–8. doi: 10.1038/s41436-021-01172-3.

Adresa za dopisivanje:

prof. prim. dr. sc. **Silvija Pušeljić**, dr. med
Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Osijek
Josipa Huttlera 4, HR-31000 Osijek
Medicinski fakultet, Sveučilište J.J. Strossmayera u
Osijeku
Cara Hadrijana 10E, HR-31000 Osijek,
e-mail: puseljic.silvija@kbo.hr

S U M M A R Y

Diagnostic possibilities in clinical genetics today and how to interpret the findings

Silvija Pušeljić, Nora Perić, Ema Kuna, Toni Maloča, Ivan Školka, Višnja Tomac, Nika Pušeljić, Luka Perić

The development of medical genetics has led to its integration into almost all areas of medicine. The clinical picture of a genetic disorder is most often recognized in childhood. Some genetic disorders may also be rare diseases and recognition “from phenotype to genotype” is highly complex due to the tremendous clinical heterogeneity. In addition to the fact that clinical features can be variable within a single gene mutation, symptoms, often non-specific, can change depending on the child’s age, and the phenotype can vary even within the same family. Most patients with complex disorders require a multidisciplinary approach and a combination of many diagnostic procedures to determine all the clinical features of the disease, all of which are time-consuming and expensive. When we perform an extended clinical work-up and detect deviations that raise a diagnostic suspicion, we need to choose one of the diagnostic genetic tests to confirm the diagnosis because confirmation usually represents the end of a diagnostic odyssey that can, sometimes, last for years. In everyday clinical practice, the complexity of diagnosing genetic disorders arises from genetic variability and the heterogeneity of the clinical picture, but also from the insufficient number of clinical geneticists and lack of clinical experience, coupled with the limited availability of genetic testing in our country. Defining clinical indications and guidelines is essential for the effective application of old and new genetic testing technologies in everyday work. In addition, good multidisciplinary cooperation is necessary between the physician who refers the patient for genetic testing, the clinical geneticist, the laboratory medical geneticist, and physicians specializing in individual specialties.

Key words: GENETIC TESTING; CHILD; HIGH-THROUGHPUT NUCLEOTIDE SEQUENCING

Whole Genome Sequencing and Artificial Intelligence in the New Era of Precision Pediatric Oncology

Petar Brlek^{1,2,3}, Dragan Primorac^{1,2,4,5,6,7,8,9,10,11}

Whole Genome Sequencing (WGS) and the application of Artificial Intelligence (AI) are significantly advancing the diagnosis and treatment of malignant diseases in pediatric patients. Precision pediatric oncology relies on detailed molecular profiling of tumors to enable an individualized therapeutic approach, improving treatment outcomes and reducing adverse effects. The identification of hereditary tumor syndromes through WGS is crucial for the early detection of germline mutations that predispose individuals to malignancies. This enables targeted preventive strategies and personalized monitoring for high-risk patients, contributing to improved early detection and risk assessment.

In contrast, tumor molecular profiling is primarily performed using Whole Exome Sequencing (WES) of tumor DNA and Whole Transcriptome Analysis through RNA sequencing. WES enables the identification of somatic mutations, while RNA sequencing provides insights into gene expression patterns and fusion transcripts that drive tumor development. These techniques also enable the assessment of key biomarkers such as Tumor Mutational Burden, Homologous Recombination Deficiency, and Microsatellite Instability, which are crucial for selecting appropriate precision therapies, including immunotherapy and targeted treatments. This comprehensive molecular characterization enhances the ability to tailor treatment strategies to each patient's unique tumor profile, improving therapeutic efficacy and minimizing adverse effects.

The integration of these genomic and transcriptomic technologies into clinical practice contributes to the development of data-driven clinical guidelines, ultimately improving long-term patient outcomes. Future research should focus on expanding the accessibility of these technologies, ensuring their integration into routine clinical practice. As the field evolves, multidisci-

¹ St. Catherine Specialty Hospital, 10000 Zagreb, Croatia

² School of Medicine, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, 31000 Osijek, Croatia

³ Faculty of Science, Department of Molecular Biology, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia

⁴ Eberly College of Science, The Pennsylvania State University, State College, PA 16802, USA

⁵ School of Medicine, University of Split, 21000 Split, Croatia

⁶ The Henry C. Lee College of Criminal Justice and Forensic Sciences, University of New Haven, New Haven, CT 06516, USA

⁷ Regiomed Kliniken, 96450 Coburg, Germany

⁸ School of Medicine, University of Rijeka, 51000 Rijeka, Croatia

⁹ Faculty of Dental Medicine and Health, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, 31000 Osijek, Croatia

¹⁰ School of Medicine, University of Mostar, 88000 Mostar, Bosnia and Herzegovina

¹¹ National Forensic Sciences University, Gandhinagar 382007, India

plinary collaboration between medical geneticists, oncologists, bioinformaticians, and AI specialists will be essential for maximizing the benefits of precision medicine in pediatric oncology.

Key words: NEOPLASTIC SYNDROMES; HEREDITARY; WHOLE GENOME SEQUENCING; SEQUENCE ANALYSIS, RNA; PRECISION MEDICINE; MEDICAL ONCOLOGY; CHILD

REFERENCES

1. Brlek P, Bulić L, Bračić M, et al. Implementing whole genome sequencing (WGS) in clinical practice: advantages, challenges, and future perspectives. *Cells*. 2024;13(6):504. doi: 10.3390/cells13060504.
2. Shah N, Brlek P, Bulić L, et al. Genomic sequencing for newborn screening: current perspectives and challenges. *Croat Med J*. 2024;65(3):261-7. doi: 10.3325/cmj.2024.65.261.
3. Brlek P, Kafka A, Bukovac A, Pećina-Šlaus N. Integrative cBioPortal analysis revealed molecular mechanisms that regulate EGFR-PI3K-AKT-mTOR pathway in diffuse gliomas of the brain. *Cancers (Basel)*. 2021;13(13):3247. doi: 10.3390/cancers13133247.
4. Brlek P, Bulić L, Mršić L, et al. Exploring the pharmacogenomic map of Croatia: PGx clustering of 522-patient cohort based on UMAP + HDBSCAN algorithm. *Int J Mol Sci*. 2025;26(2):589. doi: 10.3390/ijms26020589.
5. Brlek P, Primorac D. Budućnost cjelogenomskog sekvenciranja u pedijatriji. *Liječ Vjesn*. 2023;145(Suppl 5):51-8. doi: 10.26800/LV-145-supl5-12.

Correspondence to:

Petar Brlek, MD
St. Catherine Specialty Hospital
Branimirova 71 e
10000 Zagreb, Croatia
e-mail: petar.brlek@svkatarina.hr

SAŽETAK

Sekvenciranje cijelog genoma i umjetna inteligencija u novoj eri precizne pedijatrijske onkologije

Petar Brlek, Dragan Primorac

Sekvenciranje cijelog genoma (engl. Whole Genome Sequencing, WGS) i primjena umjetne inteligencije (engl. Artificial Intelligence, AI) značajno unapređuju dijagnostiku i liječenje malignih bolesti u dječjoj dobi. Precizna onkologija temelji se na molekularnom profiliranju tumora kako bi se omogućio individualizirani terapijski pristup, poboljšali ishodi liječenja i smanjile nuspojave. Metodom WGS-a moguće je pravovremeno otkivanje germinativnih mutacija koje dovode do nasljednih tumorskih sindroma radi ranog utvrđivanja povećavanog rizika za nastanak malignih bolesti. Ovakav pristup omogućuje ciljane preventivne strategije i personalizirano praćenje visokorizičnih pacijenata.

Molekularno profiliranje tumora najčešće se provodi sekvenciranjem cijelog egzoma (engl. Whole Exome Sequencing, WES) tumorske DNA te analizom transkriptoma sekvenciranjem tumorske RNA. WES omogućuje identifikaciju somatskih mutacija, dok RNA sekvenciranje pruža uvid u obrasce genske ekspresije te informacije o postojanju fuzijskih transkriptata koji igraju važnu ulogu u patogenezi tumora. Ove metode također omogućuju procjenu ključnih biomarkera, poput

tumorskog mutacijskog opterećenja (engl. Tumour Mutational Burden, TMB), nedostatka homologne rekombinacije (engl. Homologous Recombination Deficiency, HRD) i mikrosatelitne nestabilnosti (engl. Microsatellite Instability, MSI), koji su presudni za odabir odgovarajuće terapije, uključujući imunoterapiju i ciljanu terapiju. Sveobuhvatno molekularno profiliranje tumora omogućuje personaliziranu prilagodbu terapijskih strategija specifičnom molekularnom profilu, čime se povećava učinkovitost liječenja i smanjuju nuspojave.

Integracija ovih molekularnih tehnologija u kliničku praksu pridonosi razvoju kliničkih smjernica temeljenih na preciznim molekularnim biljezima, što dugoročno poboljšava ishode liječenja. Buduća istraživanja trebala bi se usmjeriti na povećanje dostupnosti ovih tehnologija i njihovu implementaciju u rutinsku onkološku skrb. Daljnji napredak u ovom području zahtijevat će interdisciplinarnu suradnju medicinskih genetičara, onkologa, bioinformatičara i stručnjaka za umjetnu inteligenciju kako bi se u potpunosti iskoristile prednosti precizne medicine u pedijatrijskoj onkologiji.

Ključne riječi: NASLJEDNI TUMORSKI SINDROMI; SEKVENCIRANJE CIJELOG GENOMA; SEKVENCIRANJE CIJELOG TRANSKRIPTOMA; PRECIZNA MEDICINA; MEDICINSKA ONKOLOGIJA; PEDIJARIJA

Racionalni pristup suvremenoj genetskoj dijagnostici

Sanda Huljev Frković^{1,2}

Mogućnosti genetskog testiranja veće su nego ikada ranije zahvaljujući brzom razvoju tehnologija, novim spoznajama, dostupnosti i sve manjim troškovima. Ova ekspanzija znanja i mogućnosti značajno je promijenila i naš pristup dijagnostici, od toga koga testiramo, kada i na koji način, te kako tumačimo dobivene rezultate. Navedeno utječe na indikacije za testiranje, odabir metode testiranja radi postavljanja dijagnoze, te mogućnosti procjene genetskih rizika za učestale kompleksne bolesti, što u konačnici osigurava personaliziranu skrb o svakom bolesniku. Iako su nove metodologije postale izbor za dijagnosticiranje većine genetskih stanja, ne treba zaboraviti da u određenim situacijama tradicionalne tehnike još uvijek predstavljaju vrlo učinkovit alat, kada je primijenjen na pravi način. U skladu s tim, nezaobilazna je uloga genetičara u procesu dijagnostike, od postavljanja radne dijagnoze na temelju anamneze, kliničkog statusa, dosadašnjeg tijeka bolesti te nalaza ranije učinjene obrade, zatim preporuke adekvatnog genetskog testa i razumijevanja njegovih prednosti i ograničenja, do pravilnog tumačenja nalaza bitnih za budućnost pacijenta i njegove obitelji.

Ključne riječi: GENETIKA; GENETSKO TESTIRANJE; SEKVENCIRANJE NOVE GENERACIJE; PERSONALIZIRANA MEDICINA; GENETSKO SAVJETOVANJE

Otkrivanje genetskog uzroka neke bolesti može imati značajan utjecaj na praćenje i liječenje pacijenata. Genetski potvrđena dijagnoza otklanja psihičku neizvjesnost zahvaćenih obitelji koje ponekad dugo tragaju za uzrokom bolesti. Na tom putu pacijenti često bivaju izloženi brojnim, često i nepotrebnim, dijagnostičkim procedurama. Ponekad je odgovor na pitanje “zašto” primarna motivacija obitelji za provođenje genetskog testiranja. Precizna dijagnoza omogućuje usmjerenu skrb na specifično stanje, a može biti vrlo važna i u otkrivanju skrivenih ili očekivanih komorbiditeta. Osiguravanje genetske dijagnoze omogućuje i pravilno genetičko informiranje, procjenu rizika ponavljanja bolesti, utvrđivanje mogućih nositelja

te savjetovanje vezano za reproduktivne opcije i planiranje obitelji. Definitivna dijagnoza također omogućuje pacijentima s rijetkim bolestima i njihovim obiteljima uključivanje u mrežu potrebne podrške u zajednici, u našoj zemlji, ali i u cijelom svijetu (1, 2).

Razvoj tehnika genetskog testiranja promijenio je pristup pacijentu u kliničkoj praksi, u smislu odmiicanja od tradicionalnog pristupa postavljanja dijagnoze temeljenog na fenotipu i značajnijeg oslanjanja na različite tehnologije analize genotipa. Ipak, odabir pravog genetskog testa ili dijagnostičkog pristupa može predstavljati izazov, a krivi izbor dovesti do dugotrajnog čekanja na točnu

¹KBC Zagreb, Klinika za pedijatriju, Zavod za genetiku i bolesti metabolizma

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

dijagnozu ili čak do propuštene dijagnostičke prilike (2).

Prije petnaestak godina, nasuprot ranije korištenoj standardnoj ili klasičnoj kariotipizaciji, u praksi i preporuke za dijagnostiku uvedena je molekularna kariotipizacija metodom komparativne hibridizacije genoma na mikromreži (*aCGH* ili *arrayCGH*, engl. *comparative genomic hybridization*). Ova molekularna metoda analize kromosoma omogućila je na razini cijelog genoma određivanje malih delecija (manjka) ili duplikacija (viška) određenog odsječka DNA koje nazivamo varijante u broju kopija (CNV, engl. *copy number variations*). CNV-ovi su premali da bi bili vidljivi pod mikroskopom standardnim pruganjem kromosoma, koje nam je omogućavalo detekciju promjena veličine iznad 5 do 10 Mb (3, 4). *ArrayCGH*, kao tehnika visoke rezolucije s mogućnošću detekcije promjena od oko 10 do 20 kb, značajno je pridonijela postavljanju dijagnoze, posebno u skupinama pacijenata s razvojnim poremećajem, dismorfijom i prirođenim anomalijama, točnije 15 do 20 % u odnosu na klasičnu kariotipizaciju i njen učinak od 3 do 5 % (2, 5). Metoda *aCGH* je prije više od deset godina bila prvi izbor u preporukama za genetsko testiranje osoba s navedenim stanjima uključujući i izolirani autizam (5,6, 7). Vrsta *array* s dodatkom proba koje obuhvaćaju polimorfizme jednog nukleotida (SNP, engl. *single nucleotide polymorphism*), tzv. *SNP array*, može osim detekcije CNV-a detektirati i gubitak heterozigotnosti (LOH, engl. *loss of heterozygosity*), uniparentalnu disomiju (UPD, engl. *uniparental disomy*) i poliploidiju (3, 4). Značenje promjena nađenih *array* metodom tumači se u skladu s veličinom odstupanja, kliničkom slikom, obuhvaćenim genima, informacijama iz baza podataka i literaturom (2, 3). Pronalazak promjene u broju kopija nejasnog kliničkog značenja ili izvan kliničke indikacije izazov je u tumačenju nalaza, o čemu će biti govora u nastavku teksta vezano za interpretaciju nalaza varijanti dobivenih sekvenciranjem.

Kliničar koji indicira *aCGH* treba biti svjestan što je moguće, a što nije moguće vidjeti ovom metodologijom analize kromosoma, koja se vrsta *arraya* koristi u laboratoriju u koji se šalje uzorak te, radi interpretacije dobivenih rezultata i njihovog značenja, dostaviti detaljnu medicinsku dokumentaciju. Metoda molekularne kariotipizacije ne može otkriti uravnotežene promjene kromosoma kao

što su balansirane translokacije ili inverzije, ne može se utvrditi kromosomski mozaik niskog udjela niti vrlo male promjene broja kopija unutar gena i točkaste mutacije gena (2, 3). Ukoliko tražimo za balansiranom kromosomskom promjenom, npr. u parova koji imaju ponavljane spontane pobačaje, neplodnost ili translokaciju već poznatu u obitelji, indicirano je učiniti klasičnu kariotipizaciju i fluorescentnu *in situ* hibridizaciju (FISH), odnosno konvencionalne metode analize kromosoma, koje ovdje imaju svoju primjenu unatoč značajnim tehnološkim iskoracima današnjice. FISH je tehnika koja povezuje klasičnu i molekularnu citogenetiku u kojoj se koriste DNA obojene fluorescentne probe koje se vežu isključivo na određene dijelove kromosoma, ovisno o tome za koji dio DNA je proba kreirana i tako omogućuje ciljanu identifikaciju nekog odsječka DNA. Standardna kariotipizacija može pomoći i u preciznoj vizualizaciji promjena nađenih *aCGH* - om, u točnoj lokalizaciji ili orijentaciji utvrđenih delecija ili duplikacija. Stoga je važno naglasiti da konvencionalna kariotipizacija još uvijek ima svoje mjesto u dijagnostici, a preporučuje se kao prvi dijagnostički test u postnatalnoj dijagnostici kod poznatih aneuploidija autosoma i spolnih kromosoma, na primjer kod sumnje na trisomiju 21 ili Turnerov sindrom te kod traganja za balansiranim kromosomskim promjenama (2, 3, 7).

Uz *arrayCGH*, submikroskopske kromosomske promjene s poznatim kliničkim slikama, kao što su mikrolepcijski / mikroduplikacijski sindromi (npr. Williamsov ili DiGeorgeov sindrom), mogu se dijagnosticirati FISH metodom ili metodom višestrukog umnažanja vezanih sonda (MLPA, engl. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). MLPA je lako dostupna molekularna metoda za procjenu broja kopija putem komercijalnih kompleta, koja omogućuje otkrivanje submikroskopskih promjena određenih, ciljanih regija genoma, ovisno o tome koje su probe obuhvaćene MLPA setom. U odnosu na FISH i MLPA, prednost *aCGH* metode je u definiranju točne veličine promjene, određivanju preciznih točki loma i zahvaćenih gena (2, 3), dok su MLPA i FISH financijski ponekad dostupnije i brže, ovisno o realnoj situaciji u nekoj ustanovi.

Zadnjih desetak godina, kliničku genetičku praksu, ali i pogled na medicinu uopće, promijenilo je

uvodjenje metoda sekvenciranja sljedeće generacije (NGS, engl. *next generation sequencing*) u rutinsku dijagnostiku (2, 8). NGS omogućuje sekvenciranje desetaka do tisuća gena odjednom, na vremenski i troškovno učinkovit način. Prednost NGS-a je testiranje bilo kojeg, određenog broja gena u jednom genetskom testu (2, 6). Pri tome može biti riječ o odabranom broju gena za koje se zna da su povezani sa simptomima zbog kojih se pacijent testira i tada govorimo o genetskom panelu. Primjerice, ukoliko se radi o epilepsiji, može se učiniti „Panel za epilepsiju“. Ako se putem komercijalnog panela testiraju samo geni povezani s poznatim bolestima koje su navedene u bazi Mendelski nasljednih bolesti (OMIM, engl. *Online Mendelian Inheritance in Man*) riječ je o sekvenciranju kliničkog egzoma (CES, engl. *Clinical Exome Sequencing*). Ako su testom obuhvaćene regije u genomu koje kodiraju proteine, što čini 1–2 % genoma, govorimo o cjeloegzomskom sekvenciranju ili sekvenciranju cijelog egzoma (WES, engl. *Whole Exome Sequencing*). Ako se analizira kompletni genom, riječ je o sekvenciranju cijelog genoma (WGS, engl. *Whole Genome Sequencing*) (2, 9, 10).

Tumačenje rezultata i nađenih genskih varijanti dobivenih sekvenciranjem temelji se na smjernicama Američkog koledža medicinske genetike i genomike (ACMG, engl. *American College of Medical Genetics and Genomics*) iz 2015. godine (11). Ovim smjernicama standardizirani su kriteriji za klasificiranje varijanti u patogene, vjerojatno patogene, varijante nejasnog značenja (VUS, engl. *variant of unknown significance*), vjerojatno benigne ili benigne varijante. Varijante koje su klasificirane kao patogene ili vjerojatno patogene smatraju se uzorkom bolesti s vjerojatnošću koja je veća od 90 % (12). Tumačenje varijanti temeljeno je na čimbenicima koji uključuju učestalost u populaciji, tip varijante (npr. gubitak funkcije), položaj u genu i ostalo. Za učinkovitu interpretaciju dobivenih rezultata važno je istaknuti značaj detaljnog unosa kliničkih podataka, za što je najoptimalnije pacijenta prije testiranja uputiti na pregled kliničkom genetičaru. Dijagnostički učinak je veći kod analiza kao što su WES/WGS ako se zajedno uz uzorak probanda učini i testiranje roditeljskih uzoraka (tzv. *trio* analize) (9, 10).

Klinički nalaz VUS-a uvijek predstavlja dilemu, budući da u trenutku analize uloga varijante koja je

klasificirana kao VUS nije jasno poveziva s uzrokom bolesti. Za razliku od patogenih ili vjerojatno patogenih varijanti, kliničko odlučivanje ne bi trebalo biti temeljeno na varijantama koje su klasificirane kao VUS. Stoga se preporučuje praćenje pacijenta od strane kliničkog genetičara s nalazom koji je klasificiran kao VUS, s ciljem ponovne klasifikacije varijante u slučaju pojave dokaza koji bi promijenili njezino značenje. Generalno, varijante klasificirane kao VUS se češće reklasificiraju u benigne ili vjerojatno benigne nego u patogene ili vjerojatno patogene (12, 13, 14).

U interpretaciji nalaza sekvenciranja ne treba odbacivati neke varijante samo zbog toga što neka značajka bolesti nije prisutna ili je kod pacijenta prisutno neuobičajeno obilježje. Naime, nove tehnologije testiranja otkrivaju nam blage kliničke prezentacije bolesti i pridonose našim spoznajama o tzv. „fenotipskom spektru“, a ne isključivo klasičnoj prezentaciji različitih poremećaja. Tehnikama poput WES/WGS mogu se naći i varijante locirane u genima čije značenje/uloga nije poznata (GUS, engl. *genes of unknown significance*). Ovakve se varijante klasificiraju kao VUS i važne su jer mogu dovesti do otkrića novih gena povezanih s bolešću. Procjenjuje se da se svake godine otkrije oko 250 novih gena povezanih s bolešću, stoga je moguća, a ponekad i indicirana, reanaliza podataka dobivenih ranijim sekvenciranjem (9, 10).

Kao i kod molekularne kariotipizacije nužno je biti svjestan ograničenja pojedinih NGS metoda. Ciljani genski paneli često su korišteni NGS testovi, dizajnirani tako da osiguraju dobru (dublju) pokrivenost gena, obuhvaćajući sve regije od interesa u svrhu otkrivanja uzroka bolesti, što je od velike pomoći kliničarima kod genetski heterogenih poremećaja slične kliničke prezentacije. Testiranje na temelju panela uvelike je istisnulo testiranje pojedinog gena. Upotreba panela za specifične kliničke slike općenito se preferira radi nižih troškova analize, kraćeg vremena obrade te manjeg udjela nejasnih ili slučajnih rezultata. Međutim, kvaliteta panela ovisi o njegovom sastavu, zbog čega može imati ograničenu vrijednost u otkrivanju novih gena ili povezivanju poznatih gena s određenim kliničkim fenotipom. Prema literaturi, dijagnostički prinos testiranja genetskih poremećaja putem panela je do 28,5 %, a za neke fenotipove poput epileptičke encefalopatije i veći (15, 16). Za

poremećaje sa značajnom genetskom heterogenošću i manje jasnim fenotipom, šira pokrivenost putem sekvenciranja egzoma predstavlja superiorniju opciju u odnosu na testiranje putem panela, jer WES omogućuje analizu svih kodirajućih regija u jednom postupku i identifikaciju varijanti u genima koji nisu bili povezani s nekim određenim fenotipom. Dijagnostički doprinos WES - a je od oko 29 - 55 % kod neurorazvojnih poremećaja, odnosno 26 - 58 % za neselektirane kohorte u kojima postoji sumnja na genetsku etiologiju (10, 17). Tehnološki, WES ima ograničenja kao što su nepokrivenost nekodirajućih dijelova genoma, često niti mitohondrijske DNA i nemogućnost detekcije ekspanzijskih mutacija. U slučaju sumnje na mitohondropatiju uzrokovanu mutacijom mitohondrijske DNA treba voditi računa o uključenosti iste u analizu, kao i jesu li u analizu uključeni CNV-ovi (2, 3).

Sekvenciranje cijelog genoma, koje je danas sve više komercijalno dostupno, predstavlja najopsežniji klinički genomski dijagnostički test te će najvjerojatnije u skorijoj budućnosti zamijeniti WES. Njime se analizira ukupni genski materijal, kodirajuće i nekodirajuće regije genoma, varijante u broju kopija i strukturne preuredbe uključujući i uravnotežene promjene (9, 10). U srpnju 2021. godine objavljene su smjernice ACMG - a koje preporučuju WES/WGS kao prvu ili drugu liniju genetskog testiranja za pacijente s razvojnim zaostajanjem, intelektualnim odstupanjem i višestrukim anomalijama s obzirom na veći dijagnostički doprinos ovih metoda u odnosu na druge metodologije te činjenicu da ova dijagnostika doprinosi vrlo ranom postavljanju dijagnoze (6, 9). Pri tome je jasno da ovu preporuku ograničavaju troškovi, ali se smatra da će cijena ovih tehnologija s vremenom biti još niža te da će zdravstveni sustav u konačnici uštedjeti, jer će rano postavljanje dijagnoze i izostanak prethodne prakse postupnog pristupa genetskom testiranju donijeti značajne kliničke i ekonomske prednosti. Za napomenuti je da navedenom preporukom nisu obuhvaćeni pacijenti s izoliranim poremećajem iz autističnog spektra. Dijagnostički doprinos WGS - a je, prema različitim izvorima u odnosu na WES, oko 40 - 60 % (10, 17, 18, 19).

Važno je naglasiti da arrayCGH i NGS analize ne smiju biti alternativa temeljitom kliničkom pre-

gledu kao ni nekom jednostavnijem testu koji nas vodi ka pravoj dijagnozi (2, 3). Za pacijenta s kliničkom slikom koja upućuje na neki određeni sindrom, ima pozitivnu obiteljsku anamnezu za neki određeni poremećaj ili njegova klinička slika govori u prilog dijagnozi za koju sekvenciranje sljedeće generacije ne mora i nije prva metoda izbora, preporučuje se učiniti testiranje u skladu s kliničkom sumnjom ili anamnezom. Kao primjere možemo navesti Prader-Willijev i Angelmanov sindrom zbog specifičnog obrasca metilacije, fragilni X sindrom kod kojeg očekujemo produljenje slijeda tripleta CGG unutar gena *FMR1* ili analizu poznate obiteljske varijante u genu za kardiomiopatiju. Također, iako je identifikacija varijanti u genu distrofin za Duchenneovu i Beckerovu mišićnu distrofiju (DMD/BMD) moguća primjenom NGS tehnika, kod dječaka s kliničkom slikom ove bolesti racionalnije je i ekonomski opravdano prvo učiniti MLPA analizu. U ovom slučaju MLPA će biti dijagnostički izbor u 70 % bolesnika, s obzirom na činjenicu da DMD/BMD u 60 % zahvaćenih uzrokuje delecije u genu za distrofin, a u 10 % je prisutna duplikacija gena.

Prije bilo kojeg genetskog testiranja uputno je pacijentu pojasniti značenje testa, po mogućnosti od strane kliničkog genetičara. Kao dio procesa informiranog pristanka potrebno je raspraviti moguće rezultate testa ili očekivane ishode, moguće koristi i ograničenja testiranja, te mogućnosti nejasnih, slučajnih ili sekundarnih nalaza, odnosno nalaza zbog kojih bolesnik nije testiran, a vezani su uz neke po zdravlje važne rizike. Unatoč naprednim NGS tehnologijama i kliničkoj slici koja sugerira genetsku etiologiju, dio pacijenta imat će negativan rezultat testiranja. Uzroci mogu biti različiti, od tehničkog ograničenja metode, preko mozaicizma do prisutnosti somatskih patogenih varijanti. Stoga pacijent i obitelj moraju biti upućeni i u mogućnost negativnog rezultata prije genetskog testiranja (20, 21, 22).

Zaključno, razumijevanje osnovnih načela suvremenih dijagnostičkih mogućnosti u genetici kao i njihovih ograničenja važno je kako bi se odabrao optimalan način dijagnostike. Pri tome je iznimno važna suradnja s kliničkim i laboratorijskim genetičarima. Odabir između različitih dostupnih metoda testiranja, kao što su molekularna kariotipizacija, analiza ciljanog gena ili mutacije, korištenje

genskog panela, sekvenciranja egzoma ili genoma nije uvijek jednostavan. Potrebno je voditi računa o više čimbenika, specifičnosti fenotipa, diferencijalnoj dijagnozi, dostupnosti pretrage, žurnosti postavljanja genetske dijagnoze i troškovima pretrage. U kratkom vremenu sekvenciranje genoma postat će ili već postaje dio standardne skrbi s ciljem ranog utvrđivanja genetske osnove bolesti i primjene novih terapijskih mogućnosti. Pred vratima kliničke prakse su metodologije sekvenciranja RNA, optičkog mapiranja genoma, sekvenciranja dugog čitanja i epigenetskog profiliranja koje će u bliskoj budućnosti povećati udio uspješno dijagnosticiranih pacijenata, ali uvijek uz nužan racionalni klinički pristup i razumijevanje onoga što nam nove dijagnostike pružaju (22).

Kratice:

arrayCGH (engl. *comparative genomic hybridization*) – molekularna kariotipizacija metodom komparativne hibridizacije genoma na mikromreži

DNA (engl. *deoxyribonucleic acid*) – deoksiribonukleinska kiselina

RNA (engl. *ribonucleic acid*) – ribonukleinska kiselina

CNV (engl. *copy number variations*) – varijante u broju kopija

SNP (engl. *single nucleotide polymorphism*) – polimorfizmi jednog nukleotida

LOH (engl. *loss of heterozygosity*) – gubitak heterozigotnosti

UPD (engl. *uniparental disomy*) – uniparentalna disomija

FISH (engl. *fluorescence in situ hybridization*) – fluorescentna *in situ* hibridizacija

MLPA (engl. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) – metoda višestrukog umnažanja vezanih sonidi

NGS (engl. *next generation sequencing*) – sekvenciranje sljedeće generacije

OMIM (engl. *Online Mendelian Inheritance in Man*) – online baza Mendelski nasljednih bolesti

CES (engl. *Clinical Exome Sequencing*) – sekvenciranje kliničkog egzoma

WES (engl. *Whole Exome Sequencing*) – sekvenciranje cijelog egzoma

WGS (engl. *Whole Genome Sequencing*) – sekvenciranje cijelog genoma

ACMG (engl. *American College of Medical Genetics and Genomics*) – Američki koledž

medicinske genetike i genomike

VUS (engl. *variant of unknown significance*) – varijanta nejasnog kliničkog značenja

GUS (engl. *genes of unknown significance*) – geni čije značenje/uloga nije poznata

LITERATURA

1. Horton RH, Lucassen AM. Recent developments in genetic/genomic medicine. Clin Sci (Lond). 2019;133:697-708.
2. Lalonde E, Rentas S, Lin F, Dulik MC, Skraban CM, Spinner NB. Genomic diagnosis for pediatric disorders: revolution and evolution. Front Pediatr. 2020;8:373.
3. Narayanan DL, Girisha KM. Genomic testing for diagnosis of genetic disorders in children: chromosomal microarray and next-generation sequencing. Indian Pediatr. 2020;57(6):549-54.
4. Manning M, Hudgins L; Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. Genet Med. 2010;12:742-5.
5. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. Am J Hum Genet. 2010;86:749-64.
6. Manickam K, McClain MR, Demmer LA, et al. Exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability: an evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med. 2021;23:2029-37.
7. South ST, Lee C, Lamb AN, Higgins AW, Kearney HM; Working Group for the American College of Medical Genetics and Genomics Laboratory Quality Assurance Committee. ACMG standards and guidelines for constitutional cytogenomic microarray analysis, including postnatal and prenatal applications: revision 2013. Genet Med. 2013;15(11):901-9.
8. Eren K, Taktakoğlu N, Pirim I. DNA sequencing methods: from past to present. Eurasian J Med. 2022;54(Suppl1):47-56.
9. Bagger FO, Borgwardt L, Jespersen AS, et al. Whole genome sequencing in clinical practice. BMC Med Genomics. 2024;17(1):39.
10. Nurchis MC, Altamura G, Riccardi MT, et al. Whole genome sequencing diagnostic yield for pediatric patients with suspected genetic disorders: systematic review, meta-analysis, and GRADE assessment. Arch Public Health. 2023;81:93.
11. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015;17:405-24.

12. Walsh N, Cooper A, Dockery A, O’Byrne JJ. Variant reclassification and clinical implications. *J Med Genet.* 2024;61(3):207–11.
13. Westphal DS, Burkard T, Moscu-Gregor A, Gebauer R, Hessling G, Wolf CM. Reclassification of genetic variants in children with long QT syndrome. *Mol Genet Genomic Med.* 2020;8(9):e1300.
14. Davies B, Bartels K, Hathaway J, et al. Variant reinterpretation in survivors of cardiac arrest with preserved ejection fraction (the Cardiac Arrest Survivors With Preserved Ejection Fraction Registry) by clinicians and clinical commercial laboratories. *Circ Genom Precis Med.* 2021;14(3):e003235.
15. Fellner A, Goldberg Y, Basel-Salmon L. Ordering genetic testing by neurologists: points to consider. *J Neurol.* 2023;270:3714–22.
16. Kothur K, Holman K, Farnsworth E, et al. Diagnostic yield of targeted massively parallel sequencing in children with epileptic encephalopathy. *Seizure.* 2018;59:132–40.
17. Clark MM, Stark Z, Farnaes L, et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases. *NPJ Genom Med.* 2018;3:16.
18. Mattick JS, Dinger M, Schonrock N, Cowley M. Whole genome sequencing provides better diagnostic yield and future value than whole exome sequencing. *Med J Aust.* 2018;209(5):197–9.
19. Lionel AC, Costain G, Monfared N, et al. Improved diagnostic yield compared with targeted gene sequencing panels suggests a role for whole-genome sequencing as a first-tier genetic test. *Genet Med.* 2018;20:435–43.
20. Miller DT, Lee K, Gordon AS, et al.; ACMG Secondary Findings Working Group. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2021 update: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2021;23(8):1391–8.
21. Schobers G, Schieving JH, Yntema HG, et al. Reanalysis of exome negative patients with rare disease: a pragmatic workflow for diagnostic applications. *Genome Med.* 2022;14(1):66.
22. Wortmann SB, Oud MM, Alders M, et al. How to proceed after “negative” exome: A review on genetic diagnostics, limitations, challenges, and emerging new multiomics techniques. *J Inherit Metab Dis.* 2022;45(4):663–81.

Adresa za dopisivanje:

Sanda Huljev Frković

KBC Zagreb, Klinika za pedijatriju, Zavod za genetiku i bolesti metabolizma

Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb

e-mail: shuljev@kbc-zagreb.hr

SUMMARY

Rational approach to modern genetic diagnostics

Sanda Huljev Frković

Thanks to the accelerated advancement of technologies, increased knowledge, and falling prices, the potential of genetic testing has never been greater. The expansion of knowledge and possibilities has dramatically altered our diagnostic methods, including who we test, when we test, the methods used, and how we interpret the obtained results. This influences the criteria for conducting tests, the selection of diagnostic testing methods, and the potential for evaluating genetic risk factors for common complex conditions, ultimately resulting in tailored care for each individual patient. New methods have become the preferred approach for diagnosing genetic conditions, yet it’s essential to remember that traditional techniques remain a highly effective option when used appropriately. The geneticist plays a vital role in the diagnostic process, from formulating a working diagnosis based on the patient’s medical history, current condition, disease progression, and previous treatment outcomes, to recommending appropriate genetic testing, understanding its benefits and drawbacks, and accurately interpreting relevant findings that impact the patient’s and their family’s future.

Key words: GENETICS; GENETIC TESTING; HIGH-THROUGHPUT NUCLEOTIDE SEQUENCING; PRECISION MEDICINE; GENETIC COUNSELING

Uloga kodirajućih i nekodirajućih DNA regija u razvoju genetskih poremećaja

Maja Oroz¹, Feodora Stipoljev^{1,2}, Ana Mustapić^{1,3}, Tamara Vuk¹

Cilj: Ovaj pregledni članak analizira ulogu kodirajućih i nekodirajućih regija ljudskog genoma u razvoju genetskih poremećaja, s posebnim naglaskom na različite tipove genetskih varijanti i mehanizme njihovog djelovanja.

Metode: Provedena je detaljna analiza dostupne znanstvene literature koja se bavi utjecajem varijanti pojedinačnih nukleotida, insercija, delecija i varijanti broja kopija u kodirajućim i nekodirajućim regijama genoma. Posebna pažnja posvećena je mehanizmima poput promjena u strukturi i funkciji proteina, regulaciji ekspresije gena te utjecaju na stabilnost mRNA.

Rezultati: Kodirajuće varijante, uključujući sinonimne, besmislene i pogrešne varijante, mogu značajno utjecati na strukturu, funkciju i stabilnost proteina, što dovodi do različitih genetskih poremećaja. Nekodirajuće varijante, smještene u cis i trans regulatornim elementima, igraju ključnu ulogu u regulaciji ekspresije gena, organizaciji i stabilizaciji genoma. Varijante u nekodirajućim regijama mogu utjecati na prekranje gena, transkripciju, translaciju te stabilnost RNA, što također može rezultirati patološkim stanjima.

Zaključak: Razumijevanje utjecaja genetskih varijanti u kodirajućim i nekodirajućim regijama genoma ključno je za bolje razumijevanje mehanizama patogeneze i genetske osnove brojnih bolesti. Uključivanje nekodirajućih varijanti u istraživanja može doprinijeti poboljšanju dijagnostičkih i terapijskih pristupa u medicini.

Ključne riječi: GENETIČKE BOLESTI, UROĐENE; INTRONI; EGZONI; STRUKTURE KROMOSOMA

Haploidni ljudski genom sadrži ~3,2 milijarde baza, od čega oko 98 % čini nekodirajuća DNA, dok ostatak otpada na kodirajuću (1). Kodirajuće regije DNA predstavljaju genetsku uputu prema kojoj se sintetiziraju proteini, pa su u prošlosti upravo one bile u primarnom fokusu istraživanja genetskih bolesti. Nekodirajuća DNA dugo se

smatrala nefunkcionalnom odnosno otpadnom DNA, te se vjerovalo kako nema ulogu u patogenezi. Danas je pak poznato kako nekodirajuće regije imaju vrlo važnu ulogu u organizaciji i stabilizaciji genoma te regulaciji ekspresije gena kroz različite mehanizme (2). Uključivanje nekodirajućih varijanti u istraživanja dovelo je do boljeg razu-

¹ Odjel za laboratorijsku citogenetiku, Klinika za ginekologiju i porodništvo, Klinička bolnica "Sveti Duh", Zagreb, Sveti Duh 64, 10000 Zagreb

² Medicinski fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, J. Huttlera 4, 31000 Osijek

³ Zdravstveno veleučilište Zagreb, Zagreb, Mlinarska cesta 38, 10000 Zagreb

mijevanja mehanizama patogeneze, kao i razjašnjenja genetske pozadine brojnih bolesti. U ovom preglednom članku, navesti ćemo tipove genetskih varijanti, detaljno opisati različite mehanizme kojima dovode do nastanka bolesti u kodirajućim i nekodirajućim regijama, te sve potkrijepiti stvarnim primjerima iz literature.

ULOGA KODIRAJUĆIH DNA REGIJA U RAZVOJU GENETSKIH POREMEĆAJA

Kodirajuće regije nazivaju se eksoni, a sastoje se od DNA tripleta odnosno kodona koji predstavljaju upute za nastanak pojedinačnih aminokiselina. Osim na razinu ekspresije gena, kodirajuće varijante mogu utjecati na promjenu samog aminokiselinskog slijeda što može utjecati i na strukturu, funkciju i stabilnost proteinskog produkta. Razlikujemo varijante pojedinačnih nukleotida (SNV, engl. *single nucleotide variants*), varijante koje obuhvaćaju insercije i delecije (tzv. indel varijante), te varijante broja kopija (CNV, engl. *copy number variation*).

Uloga varijanti pojedinačnih nukleotida u kodirajućoj regiji

Varijante pojedinačnih nukleotida najčešća su vrsta genetskih varijanti u ljudskom genomu, a razlikuju se prema učinku koji imaju na kodon, te posljedično na aminokiselinski slijed proteina (3). Razlikujemo sinonimne, besmislene i pogrešne varijante. Sinonimne varijante, nekad nazivane i tihe, rezultiraju nastankom kodona koji kodira istu aminokiselinu. Besmislene varijante uzrokuju promjenu kodirajućeg kodona u stop kodon, što dovodi do nastanka skraćenog proteinskog produkta. Pogrešne varijante uzrokuju promjenu kodona, što rezultira zamjenom jedne aminokiseline drugom (4).

Sinonimne varijante utječu na mRNA

Zahvaljujući redundantnosti genetskog koda, gdje više kodona kodira istu aminokiselinu, sinonimne varijante uzrokuju promjenu u nukleotidnom, ali ne i aminokiselinskom slijedu. Budući da nemaju direktan utjecaj na protein, dugo su bile zanemarene prilikom istraživanja mehanizama nastanka genetskih bolesti. Danas je pak poznato kako ove varijante mogu itekako utjecati na funkciju

proteina kroz promjenu strukture mRNA. Opisan je niz potencijalnih učinaka poput pogrešnog procesiranja prekursorske mRNA, narušavanja stabilnosti i promjena u sekundarnoj strukturi mRNA, te utjecaja na mjesta vezanja RNA-vezujućih proteina (5). Istraživanja su pokazala i kako se pojedini kodoni procesiraju brže, te se oni smatraju „optimalnim“ za nastanak određene aminokiseline. Na ovaj način sinonimne varijante mogu utjecati na količinu proteina koji se sintetizira. Također, različiti geni pokazuju različitu toleranciju na sinonimne varijante, pri čemu su se osjetljivijima pokazali geni osjetljivi na dozu, geni odgovorni za popravak DNA i geni uključeni u regulaciju staničnog ciklusa. U ovu skupinu spada i tumorski supresor *BRCA1*. Varijante u genu *BRCA1* poznati su marker nasljedne sklonosti za razvoj raka dojke i jajnika (6). Osim već prethodno identificiranih patogenih varijanti u ovom genu, nedavna istraživanja utvrdila su kako sinonimne varijante, kojima se „optimalni“ kodoni zamjenjuju alternativnim, mogu utjecati na količinu proteina kroz smanjenje efikasnosti translacije i stabilnosti mRNA (5). Na ovaj način sinonimne varijante u genu *BRCA1* mogu imati ulogu u razvoju raka dojke. Patogeni učinak sinonimne varijante utvrđen je u još jednom tumorskom supresoru, genu *APC*. Sinonimna varijanta c.1869G>T u ovom genu dovodi do poremećaja u procesiranju mRNA, te dolazi do uklanjanja eksona 14 i nastanka skraćenog proteina. Skraćeni proteinski produkt povezuje se s obiteljskom adenomatoznom polipozom i razvojem raka debelog crijeva (7).

Besmislene varijante povezuju se s razvojem teških oblika fenotipova

Besmislene varijante uzrokuju oko 11 % opisanih genetskih bolesti i predstavljaju najštetniji tip varijanti pojedinačnih nukleotida. Povezuju se s mnogim rijetkim bolestima poput Duchenne mišićne distrofije, cistične fibroze, spinalne mišićne atrofije i hemofilije, te čestim bolestima poput raka, neuroloških i metaboličkih poremećaja (8). Patološki mehanizam kojim besmislene varijante dovode do razvoja bolesti dobro je istražen na primjeru cistične fibroze, autosomno recesivnog poremećaja uzrokovanog varijantom u genu *CFTR* (MIM#277180). Protein *CFTR* funkcionira kao transmembranski kanal koji regulira prijenos kloridnih iona te sekundarno inhibira konstitutivni

priljev natrija u epitelnim stanicama respiratornog sustava, gušterače, žučnih kanala i sjemenovoda. Narušena funkcija ovog proteina dovodi do isušivanja epitela sluznica i nastanka jako viskoznog sekreta što rezultira kroničnom upalom i začepljenjem dišnih puteva. Oko 10 % pacijenata oboljelih od cistične fibroze nosi barem jedan alel s besmislenom varijantom, što rezultira nastankom mRNA s preuranjenim stop kodonom (PTC, engl. *premature termination codon*) (9). Ovakve mRNA meta su staničnog mehanizma kontrole kvalitete NMD (engl. *nonsense-mediated decay*) koji ih prepoznaje i uklanja. Rezultat je značajno smanjena razina proteina CFTR, pa se besmislene varijante povezuju s težim fenotipom i lošijom prognozom. U liječenju pacijenata koji nose besmisleni varijantu primjenjuje se oralna terapija lijekovima koji kao aktivnu tvar sadrže inhibitor PTC124 koji suprimira terminaciju i inducira ugradnju aminokiseline na mjestu stop kodona tijekom translacije na ribosomima. Rezultat je sinteza funkcionalnog proteina pune dužine koji se od originalnog proteinskog produkta može razlikovati u jednoj aminokiselini. Na ovaj način osigurava se barem djelomična ekspresija gena *CFTR* (10).

Pogrešne varijante dovode do razvoja bolesti kroz niz mehanizama

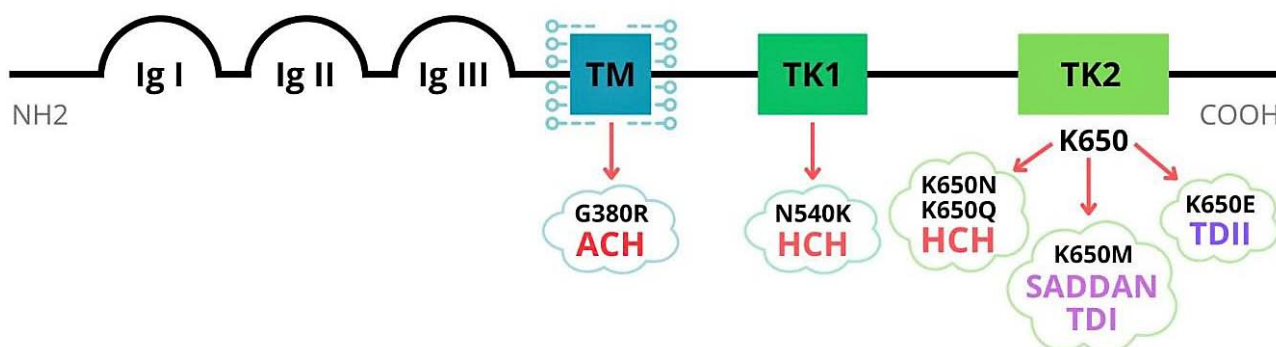
Pogrešne varijante dovode do promjene jedne aminokiseline u slijedu, a povezuju se s nastankom niza bolesti, kao i razlikama u sklonosti razvoju bolesti te osjetljivosti na terapiju. Mehanizmi kojima pogrešne varijante dovode do nastanka bolesti uključuju promjene termodinamičke stabilnosti, dinamike i aktivnosti proteina. Većina patogenih varijanti narušava stabilnost proteinskog produkta, pri čemu jačina destabilizacije korelira s težinom fenotipa (11). Destabilizirajući učinak ovih varijanti utvrđen je i kod neurodegenerativnih poremećaja poput Parkinsonove bolesti, gdje destabilizacija proteina rezultira njegovim pogrešnim smatanjem (12). Težina kliničke slike ovisi o rednom mjestu zamijenjene aminokiseline te razlici u kemijskim svojstvima između originalne i novonastale aminokiseline. Učinak pogrešnih varijanti rezultat je međudjelovanja svih ovih čimbenika, te je do danas razvijen niz softvera kojima se nastoji predvidjeti učinak pojedinih varijanti i olakšati njihova klasifikacija.

Varijabilni učinak pogrešnih varijanti u kodirajućoj regiji gena jasno je vidljiv na primjeru koštanih displazija, heterogene skupine autosomno dominantnih poremećaja uzrokovanih nizom pogrešnih varijanti u genu *FGFR3*. Gen *FGFR3* kodira transmembranski tirozin kinazni receptor fibroblastnih faktora rasta. Pogrešne varijante dovode do pojačane aktivnosti receptora pri čemu je težina kliničke slike proporcionalna razini aktivacije receptora. Najčešće koštane displazije su ahondroplazija okarakterizirana skraćenim udovima, makrocefalijom i hipoplazijom srednjeg dijela lica (MIM#100800), te hipohondroplazija koju karakterizira nešto blaži fenotip (MIM#146000), dok se letalni poremećaji poput tanatoforičke displazije javljaju rjeđe (MIM#187600, #187601). Kliničke slike ahondroplazije i hipohondroplazije često se preklapaju u ranom djetinjstvu budući da se mnoge fenotipske karakteristike razvijaju tek kasnije. Podudarnost fenotipova često onemogućava razlučivanje ovih poremećaja, zbog čega je identifikacija patogene varijante genetskom analizom osobito važna za utvrđivanje precizne dijagnoze. Težina kliničke slike varira ovisno o mjestu i učinku pogrešne varijante (Slika 1).

Više od 97 % slučajeva ahondroplazije uzrokovano je dvjema varijantama na poziciji c.1138 (c.1138G>A i c.1138G>C), gdje dolazi do zamjene glicina arginom (p.Gly380Arg; G380R). Ove varijante smještene su u eksonu 10 koji kodira za transmembransku domenu proteina *FGFR3*, te uzrokuju njegovu konstitutivnu aktivaciju (13). Varijanta c.1620C>A (p.Asn540Lys; N540K) smještena je u eksonu 12 koji kodira tirozin-kinaznu domenu *FGFR3* i odgovorna je za 76 % slučajeva hipohondroplazije. Da varijanta u istom kodonu može rezultirati vrlo različitim fenotipskim obilježjima jasno je vidljivo na primjeru varijanti u kodonu Lys650 gena *FGFR3*. Ovaj kodon nalazi se u eksonu 15 koji kodira aktivacijsku petlju tirozin kinazne domene, što za posljedicu ima snažnu konstitutivnu aktivaciju receptora. Međutim, razina aktivacije varira ovisno o tome kojom se aminokiselinom zamjenjuje lizin. Utvrđeno je kako zamjena lizina asparaginom (p.Lys650Asn; K650N) i glutaminom (p.Lys650Gln; K650Q) uzrokuje slabiju konstitutivnu aktivaciju te posljedično blaži fenotip karakterističan za hipohondroplaziju. S druge strane, supstitucija lizina metioninom (p.Lys650

Izvanstanična domena

Unutarstanična domena



Ig – imunoglobulinska domena, TM – transmembranska domena, TK – tirozin kinazna domena, ACH – ahondroplazija, HCH – hipo-hondroplazija, TD – tanatoforička displazija.

Slika 1. Patogene pogrešne varijante u kodirajućoj regiji gena *FGFR3*. Težina fenotipa koji nastaje ovisi o razlici u kemijskim svojstvima originalne i alternativne aminokiseline, kao i funkciji domene proteina u kojoj supstitucija nastaje.

Met; K650M) i glutaminskom kiselinom (p.Lys 650Glu; K650E) dovodi do jače aktivacije receptora i teže kliničke slike, koja se povezuje s tanatoforičkom displazijom tipa I i sindromom SADDAN (engl. *severe achondroplasia with developmental delay and acanthosis nigricans*), odnosno letalnom tanatoforičkom displazijom tipa II (14).

Male insercije i delecije predstavljaju drugi najčešći tip patogenih varijanti

Indel varijante podrazumijevaju insercije i/ili delecije čija duljina može varirati od 1 pb do 1 kb. Indel varijante u kodirajućoj regiji predstavljaju drugi najčešći tip genetskih varijacija te čine oko 22 % poznatih patoloških varijanti (15). Međutim, zbog kompleksnosti analize njihova učinka, ove varijante su i dalje slabije okarakterizirane od varijanti pojedinačnih nukleotida. Razlikujemo varijante koje se događaju unutar okvira čitanja (engl. *in-frame*), te izvan okvira, a koje rezultiraju pomakom okvira čitanja (engl. *frameshift*). Indel varijante čija je duljina djeljiva s tri uzrokuju inserciju, deleciju ili zamjenu aminokiseline unutar okvira čitanja. Indel varijante čija duljina nije djeljiva s tri rezultiraju pomakom okvira čitanja. Varijante koje uzrokuju pomak okvira čitanja uglavnom rezultiraju velikom promjenom u aminokiselinskom slijedu ili preuranjenom terminacijom translacije, pa je njihov učinak na funkciju proteina lakše uočljiv, zbog čega su i bolje istražene. Najčešće se klasificiraju kao varijante gubitka funkcije (engl. *loss-of-*

function) budući da se mRNA koja nastaje često uklanja mehanizmom NMD. Premda varijante koje ne rezultiraju pomakom okvira čitanja na prvi pogled djeluju manje štetno od *frameshift* varijanti, danas je poznato kako su upravo one u pozadini niza genetskih poremećaja.

Male indel varijante duljine do 21 pb (tzv. mikroindel varijante) povezuju se s nastankom niza bolesti. Brojna istraživanja utvrdila su povezanost mikrolelecija s neuropsihijatrijskim poremećajima poput shizofrenije, mentalnog zaostajanja i poremećaja iz spektra autizma (16,17). Kod pacijenata oboljelih od Alzheimerove bolesti utvrđena je mikrolelecija c.795delC u genu *OGG1* koja uzrokuje pomak okvira čitanja i dodatak od 59 aminokiselina nizvodno od stop kodona, što rezultira smanjenom aktivnošću proteina (18). Veće indel varijante utvrđene su kod razvoja mišićnih distrofija, heterogene skupine genetskih poremećaja koje karakterizira progresivno slabljenje i degeneracija skeletnih mišića. Patogene delecije jednog ili više eksona dobro su istražene u genu *DMD*, najvećem genu u ljudskom genomu koji kodira protein distrofin prisutan na membrani mišićnih vlakana skeletnih, glatkih i srčanih mišića. Duchenne mišićna distrofija (DMD, MIM#310200) uzrokovana je besmislenom varijantom ili delecijom koja dovodi do pomaka okvira čitanja, što rezultira preuranjenim stop kodonom, te posljedičnom odsutnošću distrofina i teškom kliničkom slikom. Pogrešne varijante i delecije unutar okvira čitanja rezultiraju nižom razinom distrofina ili

nastajanjem kraćeg proteina s djelomično očuvanom funkcijom. Ove varijante povezuju se s lakšom kliničkom slikom karakterističnom za Beckerovu mišićnu distrofiju (BMD, MIM#300376) (19). Niz patogenih indel varijanti otkriven je i prilikom istraživanja uzroka iznenadne srčane smrti, koja je kod mlađih ljudi najčešće povezana s nekim oblikom kardiomiopatije. Hipertrofična kardiomiopatija je genetski heterogeni poremećaj koji je ujedno i najčešći uzrok iznenadne srčane smrti (MIM#192600). Najčešći uzrok ovog poremećaja su varijante u genima *MYH7* i *MYBPC3* koje su otkrivene u 70 % slučajeva. Među patogenim varijantama opisane su i dvije delecije u genu *MYH7*: delecija od 3 pb koja rezultira gubitkom glutaminske kiseline na poziciji 927, te delecija od 2 pb u eksonu 16 koja dovodi do pomaka okvira čitanja (20). Osim hipertrofične, uzrok iznenadne srčane smrti često je i dilatacijska kardiomiopatija (MIM#613426). Iako je opisano preko 60 različitih gena povezanih s nastankom ove bolesti, najčešći uzrok su patogene varijante u genu *TTN* koje su odgovorne za nastanak više od 40 % slučajeva. Identificiran je niz patogenih varijanti koje većinom dovode do nastanka skraćenog oblika proteina titina, a među njima su opisane i brojne varijante pomaka okvira čitanja (21).

Varijante broja kopija u kodirajućoj regiji

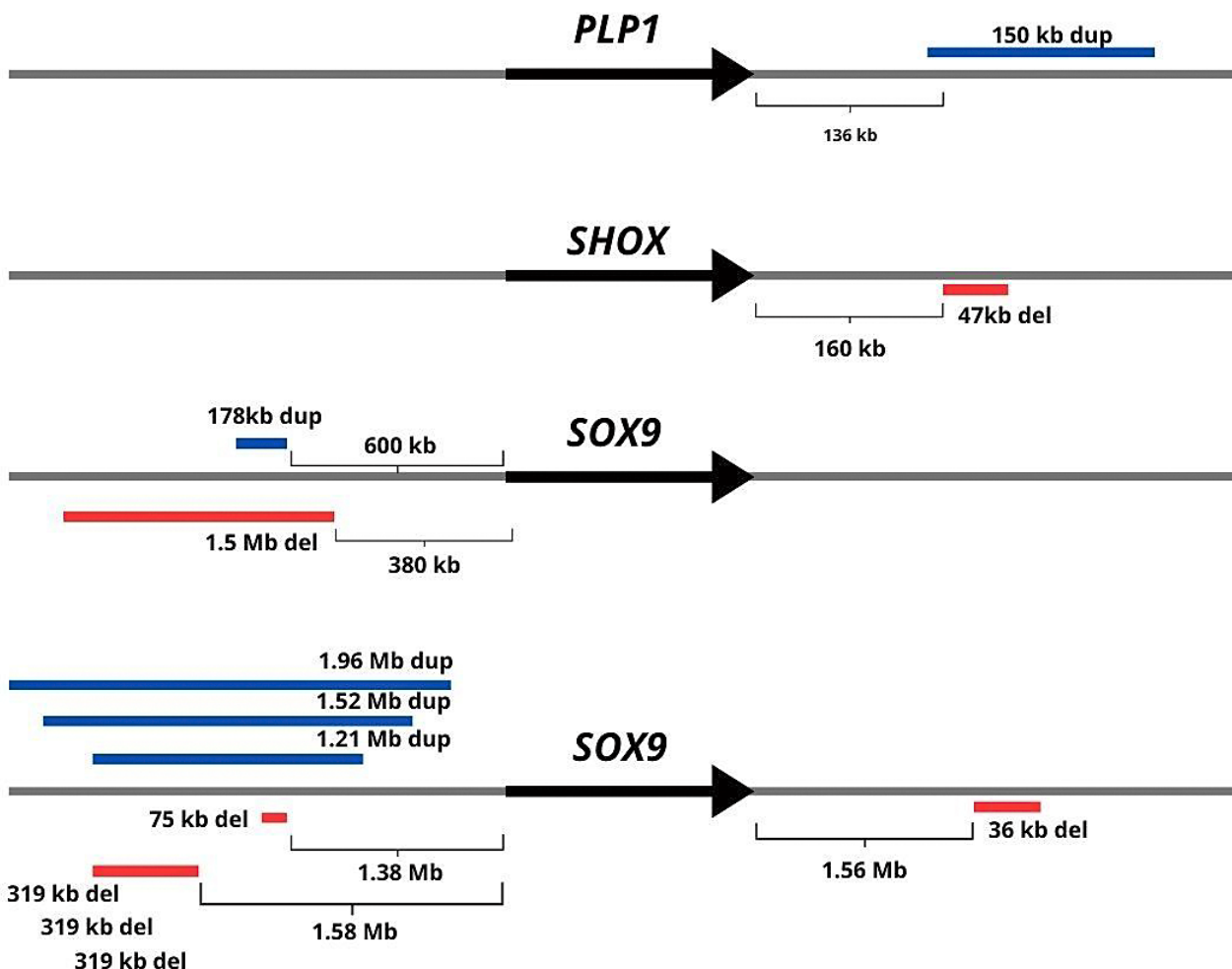
Varijante broja kopija predstavljaju varijaciju u broju ponavljanja određenih sljedova u ljudskom genomu. Mogu zahvatiti jedan ili više gena, a promjene u genskoj dozi (haploinsuficijencija, triplosenzitivnost), aktivnosti i funkciji gena u podlozi su brojnih genetskih poremećaja. Patogeni učinak dobro je opisan kod varijacija broja kratkih trinukleotidnih ponavljanja. Varijacija u broju trinukleotidnih ponavljanja dobro je poznat mehanizam razvoja Huntingtonove bolesti, nasljednog neurodegenerativnog poremećaja okarakteriziranog propadanjem neurona u mozgu (MIM#603218). Huntingtonova bolest nastaje kao posljedica povećanog broja ponavljanja CAG trinukleotida u kodirajućoj regiji gena *HTT*. Dok je broj ponavljanja kod zdravih pojedinaca između 10 i 35, kod pacijenata oboljelih od ove bolesti utvrđeno je iznad 40 ponavljanja ovog trinukleotida. Broj ponavljanja kod oboljelih može jako varirati, a veći broj ponavljanja povezuje se s ranijim nastupom bolesti (22).

ULOGA NEKODIRAJUĆIH DNA REGIJA U RAZVOJU GENETSKIH POREMEĆAJA

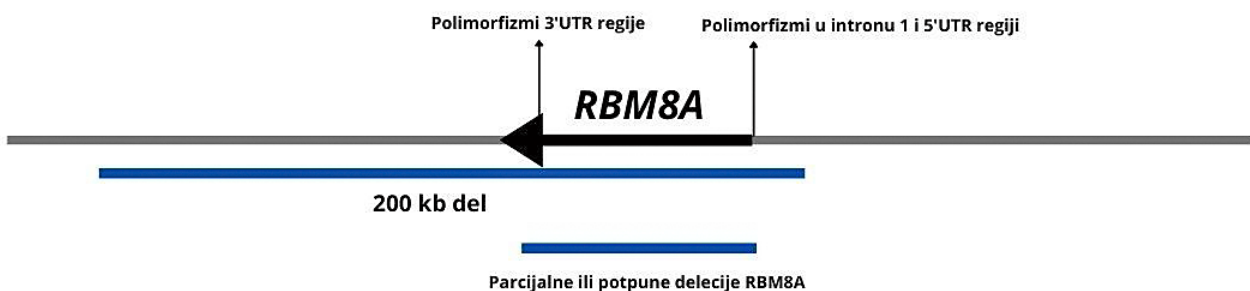
Nekodirajuće regije možemo podijeliti na *cis* regulatorne elemente (CRE, engl. *Cis-regulatory elements*) i *trans* regulatorne elemente (TRE, engl. *Trans-regulatory elements*). U CRE spadaju promotori, pojačivači, inzulatori i prigušivači. Promotori se nalaze u blizini mjesta početka transkripcije gena, a predstavljaju mjesto formiranja preinicijacijskog kompleksa koje čine transkripcijski faktori i drugi elementi potrebni za početak transkripcije. Pojačivači i prigušivači su najvažniji CRE elementi odgovorni za regulaciju prostorne i vremenske ekspresije gena na tkivno-specifičan način. Mogu se nalaziti megabazama udaljeni uzvodno ili nizvodno od ciljnog gena, a osim što djeluju na način neovisan o položaju, mogu regulirati transkripciju bez obzira na njihovu orijentaciju. Konačno, jedan pojačivač/utišivač može regulirati više gena, a istovremeno svaki gen može biti reguliran s više pojačivača/utišivača. Inzulatori su ključni za organizaciju kromatina u visokoorganizirane kromatinske jedinice - konstitucijske topološke domene (TAD, engl. *Topologically associating domains*). U TRE elemente spadaju transkripcijski faktori i regulatorne RNA molekule koje putem interakcije s proteinima, drugim RNA molekulama i DNA regijama sudjeluju u regulaciji ekspresije gena (23).

Zadnjih 20 godina svjedočimo velikom tehnološkom napretku u genomici s razvojem druge generacije sekvenciranja koja je omogućila simultanu masovnu analizu velike količine podataka (genski paneli, cjeloegzomsko i genomsko sekvenciranje) i treće generacije sekvenciranja dugih DNA fragmenata na pojedinačnim DNA molekulama (analiza GC bogatih i repetitivnih DNA regija, metilacijska analiza, analiza strukturnih razmještanja poput translokacija). Zahvaljujući navedenim tehnologijama sekvenciranje cijelog ljudskog genoma (engl. *Whole genome sequencing*, WGS) pružilo je brojne informacije o strukturi i funkciji nekodirajućih dijelova ljudskog genoma. WGS je zajedno s analizom trodimenzionalne strukture genoma s pomoću napredne tehnologije hvatanja konformacije kromatina (engl. *High-throughput Chromatin Conformation Capture*, Hi-C) doprinio boljem razumijevanju uloge nekodirajućih varijanti u

A) Patološke varijante broja kopija u nekodirajućim regijama



B) Složeno nositeljstvo velikih genomskih delecija i nekodirajućih varijanti



Slika 2. A) Patogeni CNV-ovi nekodirajućih genomskih regija koje se nalaze uzvodno i nizvodno od protein-kodirajućih gena: *PLP1*, *SHOX*, *SOX9*. B) Primjer složenog nositeljstva patogenih CNV i nekodirajućih varijanti u 5'UTR i 3'UTR regiji ili prvom intronu *RBM8A* kod TAR sindroma.

regulaciji humanog genoma i njihovom utjecaju na razvoj genetskih poremećaja. Iako je i danas još uvijek većina kliničkih genetskih testiranja uglavnom fokusirana na traženje patogenih varijanti u

kodirajućim regijama genoma, sve se više pokazuje važna uloga varijanti u nekodirajućim regijama (24). Postoji mnoštvo poznatih mehanizama putem kojih varijante u nekodirajućim regijama,

uzrokuju različite genetske poremećaje. Primjerice, patološke varijante mogu utjecati na prekrajane gena, transkripciju, translaciju, obradu i stabilnost RNA te interakcije kromatinskih regija (25). Točno otkrivanje i klasifikacija ovih varijanti s ciljem prepoznavanja njihove uloge u patofiziologiji specifičnih bolesti ključne su za povećanje dijagnostičkog prinosa i omogućavanje pouzdane genetske dijagnoze.

Varijante broja kopija nekodirajućih regija

U posljednjih nekoliko godina sve je više primjera nekodirajućih CNV koji pokazuju patogeni učinak putem mehanizma pozicijskog efekta. Nekodirajuće regije koje se nalaze uzvodno i nizvodno od protein-kodirajućih gena često sadrže važne CRE elemente. Zbog toga CNV u regulatorno važnim nekodirajućim regijama mogu značajno utjecati na ekspresiju određenih gena (Slika 2). Primjerice, duplikacija veličine 150 kb koja se nalazi 136 kb nizvodno od gena *PLP1* opisana je kod pacijenta s kliničkom slikom spastičke paraplegije tipa 2 s aksonalnom perifernom neuropatijom (26). Gen *SHOX* se nalazi u Xp22.33 pseudoautosomalnoj regiji (PAR) spolnih kromosoma, a patogene varijante u ovom genu povezane su s razvojem Leri-Weill dishondrosteoze (LWD, MIM#27300). *Benito i sur.* su pokazali patogen učinak ponavljajuće delecije veličine oko 47 kb u regiji koja uključuje pojačivač *ECR1*. Delecija ovog pojačivača smanjila je ekspresiju *SHOX* te uzrokovala razvoj LWD (27). Delecija veličine 1,5 Mb, smještena 380 kb uzvodno od *SOX9* identificirana je kod pacijenta s kamptomeličnom displazijom i reverzijom spola iz muškog u ženski (CMPD, MIM#114290). Nasuprot tome, duplikacije različitih veličina uzvodno od *SOX9* povezane su s reverzijom spola iz ženskog u muški (28,29). Delecije u regijama udaljenim više od 1 Mb od *SOX9* povezane su s CMPD koja uključuje Pierre Robin sekvencu (MIM#114290), što sugerira postojanje daleko dosežnih CRE u susjednim regijama genoma (30).

Složeno nositeljstvo velikih genomskih delecija i nekodirajućih varijanti

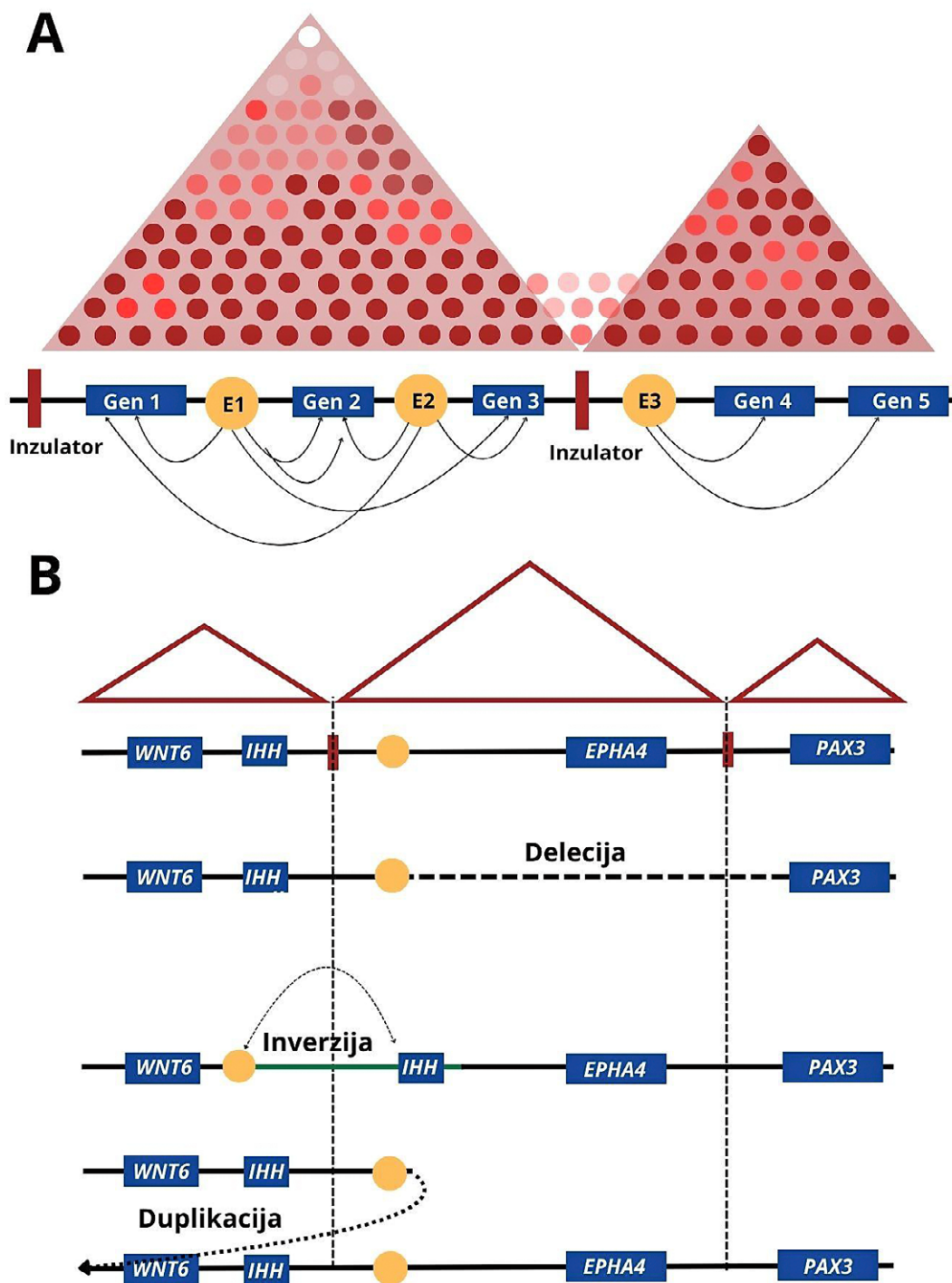
Patogene CNV mogu se javiti i u obliku složenog nositeljstva u kombinaciji s varijantama i polimorfizmima u različitim genima i regulatornim regija-

ma. Velike populacijske studije, čiji su rezultati objedinjeni u bazama podataka poput gnomAD (engl. *Genome Aggregation Database*) i ExAC (engl. *Exome Aggregation Consortium*), pokazale su kako se patogeni CNV-ovi mogu pronaći i u zdravih osoba te prenijeti od asimptomatskih roditelja-nosioca varijanti. Dokazano je da je potrebna prisutnost dodatnih genetskih modifikatora za razvoj kliničke slike, a neki od njih nalaze se u nekodirajućim regijama genoma.

Delecije kromosomske regije 1q21.1 veličine oko 200-kb koje obuhvaćaju *RMB8A* česte su kod autosomno recesivnog sindroma trombocitopenije s aplazijom radijusa (TAR, MIM#274000). *Klopocki i sur.* su otkrili da su mikrolelecije kod pacijenata s TAR-om najčešće naslijeđene od jednog od asimptomatskih roditelja, čime se krenulo za otkrivanjem dodatnih mehanizama koji uzrokuju TAR (31). *Alberts i sur.* su 2012. godine razjasnili etiologiju razvoja TAR sindroma. Za razvoj kliničke slike potrebna je kombinacija varijanti koje uzrokuju gubitak funkcije *RBM8A* (poput delecija gena, varijanti pomaka okvira čitanja ili preuranjenog stop kodona) na jednom alelu te polimorfizama u 5'UTR i 3'UTR regiji ili prvom intronu *RBM8A* koji smanjuju ekspresiju s drugog alela (Slika 2). U navedenom istraživanju pokazano je da su većina uključenih pacijenata s TAR sindromom (51/53) složeni heterozigotni nositelji mikrolelecije regije 1q21.1 koja uključuje *RBM8A* i jednog regulatornog polimorfizma *RBM8A* (32). Nekodirajući CNV-ovi pronađeni su i u složenom heterozigotnom obliku kod pacijenata s Burn-McKeow sindromom (BMKS, MIM#608572). U istraživanju *Wieczorek i sur.* četiri od jedanaest uključenih pacijenata nositelji su mikrolelecija kromosomske regije 18q23, a najmanja preklapajuća regija obuhvaćala je *TXNL4A*. Kod ta ista 4 pacijenta na drugom alelu je pronađena delecija veličine 34 nukleotida koja se nalazila unutar promotorske regije *TXNL4A*. Funkcionalnom analizom utvrđeno je da ove delecije drastično smanjuju ekspresiju *TXNL4A* te doprinosi razvoju kliničke slike BMKS (33).

Nekodirajuće varijante u interakcijama cis-regulatornih elemenata

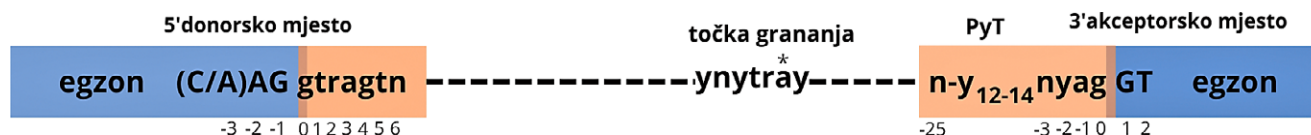
Ljudski genom organiziran je u TAD domene, velike regije kromatina s visokom razinom unutarnjih interakcija koje doprinose prostornoj organizaciji



Slika 3. A) Prikaz genomske arhitekture organizirane u visokoorganizirane kromatinske jedinice. TAD-ovi služe kao funkcionalne jedinice koje ograničavaju interakcije gena i CRE elemenata na točno specifične regije. B) Deregulacija TAD-ova kroz strukturne promjene poput delecija, inverzija i duplikacija može utjecati na regulaciju gena u lokusu WNT6/IHH/EPHA4/PAX3, što je povezano sa specifičnim malformacijama udova.

genoma. TAD-ovi djeluju kao funkcionalne jedinice koje omogućuju preciznu regulaciju ekspresije gena, služeći kao barijere za širenje kromatinskih signala i osiguravajući da interakcije između gena i CRE-ova ostanu ograničene unutar određene domene. TAD-ovi omogućuju koordinaciju interakci-

ja prigušivača i pojačivača, čak i kada su udaljeni nekoliko megabaza od ciljanog promotora, čime se osigurava precizna kontrola ekspresije gena i izbjegava nespecifična aktivacija susjednih gena. Strukturna genomska razmještanja, poput delecija, duplikacija, inverzija i translokacija, mogu na-



Slika 4. Prikaz konsenzusnih regija prekranja. Označeni su konzervirani nukleotidi koji se nalaze u 5' donorskom, 3' akceptorskom mjestu prekranja, točki grananja (*) i polipirimidinskom nizu (PyT).

rušiti prirodnu arhitekturu TAD domena. Uslijed micanja normalnih granica između domena, može doći do abnormalne ekspresije gena budući da pojačivači i utišivači mogu biti usmjereni prema genima s kojima inače ne stupaju u interakcije (34). Hvatanje kromosomske konformacije Hi-C metodom visokog propusnog kapaciteta pruža jedinstven uvid u trodimenzionalnu organizaciju genoma te omogućuje otkrivanje prostorne arhitekture kromatina, interakcije između udaljenih regija genoma, identifikaciju topoloških TAD-ova i narušavanje granica TAD-ova uzrokovanih strukturnim promjenama.

Narušavanje genomske regije koja obuhvaća *WNT6/IHH/EPHA4/PAX3* jedan je od prvih opisanih slučajeva u medicini u kojem je pokazano da strukturne promjene unutar TAD-ova rezultiraju razvojem genetskih poremećaja. Delecije, duplikacije i inverzije navedene regije narušavaju regulaciju susjednih gena, uzrokujući rijetke malformacije udova (Slika 3). Lupianez i sur. su kroz serije Hi-C eksperimenata i ekspresijskih studija na tkivima mišjih udova i humanim stanicama dokazali da strukturna razmještanja narušavaju normalnu topologiju protein-kodirajućih gena i njihovih pojačivača, što dovodi do abnormalne genske ekspresije (35). Dokaza o utjecaju strukturalnih promjena na funkciju TAD-ova sve je više, naglašavajući njihovu ulogu u razvoju specifičnih bolesti. Franke i sur. su pokazali da preklapajuće duplikacije blizu *SOX9* koje se protežu kroz granice susjednog TAD-a i obuhvaćaju *KCNJ2* rezultiraju formiranjem novog TAD-a (engl. *neo-TAD*) u kojem je *KCNJ2* pogrešno reguliran interakcijama s novim pojačivačima, što uzrokuje fenotip malformacije udova poznat kao Cooksov sindrom. Učinak poremećaja TAD-a opisan je kod pacijenata s branhiookulofacijalnim sindromom (BOFS, MIM#113620). Uslijed inverzije lokusa koji obuhvaća *TFAP2A*, dolazi do gubitka interakcija *TFAP2A* s pojačivačima u stanicama neuralnog grebena, što dovodi do smanjene ekspresije ovog gena objašnjavajući fenotip (36).

Nekodirajuće varijante u intronskim regijama

Prosječni protein-kodirajući geni sastoje se od osam do 10 eksona između kojih se nalaze nekodirajuće intronske sekvence, koje su otprilike 20 puta duže. Tijekom transkripcije, cijeli geni se transkribiraju u prekursorsku mRNA, nakon čega se introni precizno uklanjaju kako bi nastala zrela mRNA spremna za translaciju. Granice između introna i eksona definirane su kratkim konsenzusnim sekvencama na 5' donorskom i 3' akceptorskom mjestu. Za pravilno prekranje važnu ulogu ima i katalitički adenzin (točka grananja) koji se nalazi 18-40 nukleotida uzvodno od 3' mjesta i polipirimidinski niz (PyT) koji je smješten između točke grananja i 3' akceptorskog mjesta. Donorsko mjesto prekranja (-3, +6) definirano je s tri terminalna nukleotida svakog eksona i prvih sedam nukleotida u intronu. Akceptorsko mjesto prekranja (-25, +2) sastoji se od prve dvije baze svakog eksona i oko 26 baza uzvodno od kraja introna, uključujući PyT (Slika 4).

Varijante u donorskim i akceptorskim mjestima koje utječu na prekranje gena poznat su patogen mehanizam koji dovodi do gubitka funkcije gena. Primjerice, kod pacijenta s kroničnom granulomatoznom bolesti (CGDX, MIM#306400) varijanta *CYBB* c.45+1G>C uzrokovala je promjenu u donorskom mjestu prekranja i dovela do gubitka funkcije *CYBB*. Varijanta u akceptorskom mjestu prekranja c.232-24C>A u *COL4A5* opisana je u pacijenata s Alportovim sindromom (ATS1, MIM#301050). U literaturi su opisane i patogene varijante u točki grananja. Varijanta *CDT1* c.1276-24 G>A uzrokuje kompletnu retenciju introna 8 i preskakanje eksona 9 kod pacijenata s Meier-Gorlin sindromom tipa 4 (MGORS4, MIM#613804). Sličan mehanizam pokazan je kod pacijenta s patogenom varijantom c.2701-25T>G u genu *COL5A1* koja uzrokuje djelomično preskakanje eksona 33 i razvoj Ehler-Danlos sindroma tipa I (EDSCL1, MIM#130000) (37).

Sve veća dostupnost cjelogenomskog testiranja dovela je do identifikacije patogenih varijanti koje su smještene duboko unutar introna. Duboke intronske varijante mogu dovesti do stvaranja novih atipičnih (nekanonskih) mjesta prekrajanja koje sa svojom sekvencom oponašaju konsenzusne motive kanonskih mjesta prekrajanja, a mogu i utjecati na prepoznavanje pojačivača i prigušivača transkripcije (38). Primjerice, kod pacijenta sa Stickler sindromom tipa 1 (STL1, MIM#108300), duboka intronska varijanta COL2A1 c.1527+104T>G stvorila je lažno donorsko mjesto prekrajanja 104 nukleotida uzvodno od eksona 24, što je rezultiralo abnormalnim prekrajanjem mRNA (39). Atipično prekrajanje može dovesti do formiranja pseudo-eksona, čime se narušava okvir čitanja i uvodi preuranjeni stop kodon (40). Uključenje pseudo-eksona prvi je put zabilježeno kod pacijenata s β -talasemijom (MIM#613985). Varijanta HBB IVS2+705T>G je stvorila novo donorsko mjesto prekrajanja i aktivirala akceptorsko mjesto prisutno unutar drugog introna (41). Od tada su identificirane broje duboke intronske varijante koje dovode do formiranja pseudo-eksona pa su tako opisane brojne duboke intronske varijante u genima povezanim s neuofibromatozom i Duchenne mišićnom distrofijom (42, 43). Duboke intronske varijante mogu narušiti i motive nužne za regulaciju transkripcije. Primjerice, prvi intron MPZ sadrži vezna mjesta za transkripcijske faktore SOX10 i EGR2. Duboka intronska varijanta MPZ c.126-1086T>A je promijenila visoko konzerviranu bazu u veznom mjestu za SOX10 i smanjila njegovu pojačivačku aktivnost. Poremećena regulacija MPZ uzrokovala je razvoj sindroma Charcot-Marie-Tooth tip 1B (CMT1B, MIM#118200) (44).

ZAKLJUČAK

Unatoč značajnom napretku u tehnologiji i našem razumijevanju medicinske genetike, i dalje se suočavamo s izazovima poput etičkih dilema, interpretacije slučajnih nalaza i varijanti nepoznatog značenja te potrebom za daljnjim poboljšanjima u preciznosti i dostupnosti ovih tehnologija. Etička pitanja uključuju privatnost i povjerljivost genetskih podataka te potencijalnu diskriminaciju na temelju genetskih informacija. Interpretacija varijanti nepoznatog značenja predstavlja izazov u kliničkoj praksi, zahtijevajući kontinuirano ažuriranje baza podataka i suradnju različitih profila

stručnjaka kako bi se osigurala točna dijagnoza i odgovarajuće genetsko savjetovanje. Unatoč tim izazovima, genomska dijagnostika i terapija označavaju prekretnicu u medicini, pružajući mogućnost rane intervencije i poboljšanja ishoda liječenja osoba s genetskim poremećajima. Rana dijagnoza omogućuje pravovremeno planiranje terapije i pružanje podrške obiteljima, što može značajno utjecati na kvalitetu života pacijenata i utjecati na daljnje planiranje potomstva. Napredak u genomskoj tehnologiji obećava daljnje unaprjeđenje dijagnostičkih i terapijskih pristupa, čineći personaliziranu medicinu sve dostupnijom i učinkovitijom.

Kratice:

CNV	– varijante broja kopija (engl. <i>Copy number variation</i>)
SNV	– varijante pojedinačnih nukleotida (engl. <i>Single nucleotide variants</i>)
PTC	– preuranjeni stop kodon (engl. <i>Premature termination codon</i>)
NMD	– stanični mehanizam kontrole kvalitete (engl. <i>Nonsense-mediated decay</i>)
DMD	– Duchenne mišićna distrofija
BMD	– Becker mišićna distrofija
CRE	– cis regulatorni elementi (engl. <i>Cis-regulatory elements</i>)
TRE	– trans regulatorni elementi (engl. <i>Trans-regulatory elements</i>)
TAD	– konstitucijske topološke domene (engl. <i>Topologically associating domains</i>)
WGS	– sekvenciranje cijelog ljudskog genoma (engl. <i>Whole genome sequencing</i>)
Hi-C	– napredna tehnologija hvatanja konformacije kromatina (engl. <i>High-throughput Chromatin Conformation Capture</i>)
PAR	– pseudoautosomalna regija
LWD	– Leri-Weill dishondrosteoza
CMPPD	– Kampomelična displazija i reverzija spola iz muškog u ženski
TAR	– Trombocitopenija s aplazijom radijusa
BMKS	– Burn-McKeow sindrom
BOFS	– Branchiookulofacijalni sindrom
Pyt	– polipirimidinski niz
ATS1	– Alportov sindrom
CGDX	– Kronična granulomatozna bolest
MGORS4	– Meier-Gorlin sindrom tipa 4
EDSCL1	– Ehler-Danlos sindroma tipa I
STL1	– Stickler sindrom tipa 1
CMT1B	– Charcot-Marie-Tooth tip 1B

LITERATURA

1. Nurk S, Koren S, Rhie A, et al. The complete sequence of a human genome. *Science*. 2022;376(6588):44–53. doi: 10.1126/science.abj6987
2. Maurano MT, Humbert R, Rynes E, et al. Systematic localization of common disease-associated variation in regulatory DNA. *Science*. 2012;337(6099):1190–5. doi:10.1126/science.1222794
3. Stenson PD, Ball EV, Mort M, et al. Human Gene Mutation Database (HGMD®): 2003 update. *Hum Mutat*. 2003; 21(6):577–81. doi:10.1002/humu.10216
4. Antonarakis SE, Cooper DN. Human Gene Mutation in Inherited Disease. In: Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics. 2013;1–48.
5. Dhindsa RS, Copeland BR, Mustoe AM, Goldstein DB. Natural selection shapes codon usage in the human genome. *Am J Hum Genet*. 2020;107(1):83–95. doi:10.1016/j.ajhg.2020.05.014
6. Rosen EM, Fan S, Pestell RG, Goldberg ID. BRCA1 gene in breast cancer. *J Cell Physiol*. 2003;196(1):19–41. doi: 10.1002/jcp.10212
7. Montera M, Piaggio F, Marchese C, et al. A silent mutation in exon 14 of the APC gene is associated with exon skipping in a FAP family. *J Med Genet*. 2001;38(12):863–7. doi:10.1136/jmg.38.12.863
8. Temaj G, Telkoparan-Akillilar P, Nuhii N, Chichiarelli S, Saha S, Saso L. Recoding of Nonsense Mutation as a Pharmacological Strategy. *Biomedicines*. 2023;11(3):659. doi: 10.3390/biomedicines11030659
9. Boyle MP, De Boeck K. A new era in the treatment of cystic fibrosis: correction of the underlying CFTR defect. *Lancet Respir Med*. 2013;1(2):158–63. doi: 10.1016/S2213-2600(13)70010-8
10. Sharma J, Du M, Wong E, et al. A small molecule that induces translational readthrough of CFTR nonsense mutations by eRF1 depletion. *Nat Commun*. 2021;12(1):4358. doi:10.1038/s41467-021-24613-z
11. Petrosino M, Novak L, Pasquo A, et al. Analysis and interpretation of the impact of missense variants in cancer. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):5416. doi:10.3390/ijms22115416
12. Morais VA, Verstreken P, Roethig A, et al. Parkinson's disease mutations in PINK1 result in decreased Complex I activity and deficient synaptic function. *EMBO Mol Med*. 2009;1(2):99–111. doi:10.1002/emmm.200900032
13. Webster MK, Donoghue DJ. Constitutive activation of fibroblast growth factor receptor 3 by the transmembrane domain point mutation found in achondroplasia. *EMBO J*. 1996;15(3):520–7. doi: 10.1002/j.1460-2075.1996.tb00317.x
14. Bellus GA, Spector EB, Speiser PW, et al. Distinct missense mutations of the FGFR3 lys650 codon modulate receptor kinase activation and the severity of the skeletal dysplasia phenotype. *Am J Hum Genet*. 2000;67(6):1411–21. doi: 10.1086/316876
15. Ball EV, Stenson PD, Abeyasinghe SS, Krawczak M, Cooper DN, Chuzhanova NA. Microdeletions and microinsertions causing human genetic disease: common mechanisms of mutagenesis and the role of local DNA sequence complexity. *Hum Mutat*. 2005;26:205–213. doi: 10.1002/humu.20239
16. Walsh T, McClellan JM, McCarthy SE, et al. Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science*. 2008;320:539–43. doi:10.1126/science.1155176
17. Yu CE, Dawson G, Munson J, et al. Presence of large deletions in kindreds with autism. *Am J Hum Genet*. 2002; 71(1):100–15. doi:10.1086/341702
18. Mao G, Pan X, Bei B, et al. Identification and characterization of OGG1 mutations in patients with Alzheimer's disease. *Nucleic Acids Res*. 2007;35(8):2759–66. doi:10.1093/nar/gkm182
19. Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S, Moser H, Kunkel LM. An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics*. 1988;2(1):90–5. doi:10.1016/0888-7543(88)90126-2
20. Waldmüller S, Sakthivel S, Saadi AV, et al. Novel deletions in MYH7 and MYBPC3 identified in Indian families with familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol*. 2003;35(6):623–36. doi:10.1016/S0022-2828(03)00079-2
21. Herman DS, Lam L, Taylor MRG, et al. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2012; 366(7):619–28. doi:10.1056/NEJMoa1110180
22. Keum JW, Shin A, Gillis T, et al. The HTT CAG-expansion mutation determines age at death but not disease duration in Huntington disease. *Am J Hum Genet*. 2016;98(2):287–98. doi:10.1016/j.ajhg.2015.12.010
23. Cremer M, Cremer T. Nuclear compartmentalization, dynamics, and function of regulatory DNA sequences. *Genes Chromosomes Cancer*. 2019;58(7):427–36. doi:10.1002/gcc.22730
24. Ellingford JM, Ahn JW, Bagnall RD, et al. Recommendations for clinical interpretation of variants found in non-coding regions of the genome. *Genome Med*. 2022;14(1):73. doi:10.1186/s13073-022-01026-2
25. Peña-Martínez EG, Rodríguez-Martínez JA. Decoding non-coding variants: Recent approaches to studying their role in gene regulation and human diseases. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2024;16(1):4. doi:10.2741/S485
26. Lee JA, Madrid RE, Sperle K, et al. Spastic paraplegia type 2 associated with axonal neuropathy and apparent PLP1 position effect. *Ann Neurol*. 2006;59(2):398–403. doi: 10.1002/ana.20861
27. Benito-Sanz S, Royo JL, Barroso E, et al. Identification of the first recurrent PAR1 deletion in Léri-Weill dyschon-

- drosteosis and idiopathic short stature reveals the presence of a novel SHOX enhancer. *J Med Genet.* 2012; 49(7):442–50. doi:10.1136/jmedgenet-2012-100832
28. Pop R, Conz C, Lindenberg KS, et al. Screening of the 1 Mb SOX9 5' control region by array CGH identifies a large deletion in a case of campomelic dysplasia with XY sex reversal. *J Med Genet.* 2004;41(4):e47. doi: 10.1136/jmg.2003.015229
 29. Cox JJ, Willatt L, Homfray T, Woods CG. A SOX9 duplication and familial 46,XX developmental testicular disorder. *N Engl J Med.* 2011;364(1):91–3. doi:10.1056/NEJMc1012413
 30. Benko S, Fantes JA, Amiel J, et al. Highly conserved non-coding elements on either side of SOX9 associated with Pierre Robin sequence. *Nat Genet.* 2009;41(3):359–64. doi: 10.1038/ng.333
 31. Klopocki E, Schulze H, Strauss G, et al. Complex inheritance pattern resembling autosomal recessive inheritance involving a microdeletion in thrombocytopenia-absent radius syndrome. *Am J Hum Genet.* 2007;80(2):232–40. doi: 10.1086/510690
 32. Albers CA, Paul DS, Schulze H, et al. Compound inheritance of a low-frequency regulatory SNP and a rare null mutation in exon-junction complex subunit RBM8A causes TAR syndrome. *Nat Genet.* 2012;44(4):435–9. S1-2. doi: 10.1038/ng.2209
 33. Wieczorek D, Newman WG, Wieland T, et al. Compound heterozygosity of low-frequency promoter deletions and rare loss-of-function mutations in TXNL4A causes Burn-McKeown syndrome. *Am J Hum Genet.* 2014;95(6):698–707. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.11.001
 34. Dixon JR, Selvaraj S, Yue F, et al. Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions. *Nature.* 2012;485(7398):376–80. doi: 10.1038/nature11082
 35. Lupiáñez DG, Kraft K, Heinrich V, et al. Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions. *Cell.* 2015;161(5):1012–25. doi: 10.1016/j.cell.2015.04.004
 36. Tena JJ, Santos-Pereira JM. Topologically associating domains and regulatory landscapes in development, evolution and disease. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:702787. doi: 10.3389/fcell.2021.702787
 37. Zhang P, Philippot Q, Ren W, et al. Genome-wide detection of human variants that disrupt intronic branchpoints. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022;119(44):e2211194119. doi: 10.1073/pnas.2211194119
 38. King K, Flinter FA, Nihalani V, Green PM. Unusual deep intronic mutations in the COL4A5 gene cause X linked Alport syndrome. *Hum Genet.* 2002;111(6):548–54. doi: 10.1007/s00439-002-0849-5
 39. Richards AJ, McNinch A, Whittaker J, et al. Splicing analysis of unclassified variants in COL2A1 and COL11A1 identifies deep intronic pathogenic mutations. *Eur J Hum Genet.* 2012;20(5):552–8. doi:10.1038/ejhg.2011.211
 40. Popp MW-L, Maquat LE. Organizing principles of mammalian nonsense-mediated mRNA decay. *Annu Rev Genet.* 2013;47(1):139–65. doi:10.1146/annurev-genet-111312-085539
 41. Dobkin C, Pergolizzi RG, Bahre P, Bank A. Abnormal splice in a mutant human beta-globin gene not at the site of a mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1983;80(5):1184–8. doi:10.1073/pnas.80.5.1184
 42. Cunha K, Oliveira N, Fausto A, et al. Hybridization capture-based next-generation sequencing to evaluate coding sequence and deep intronic mutations in the NF1 gene. *Genes (Basel).* 2016;7(12):133. doi:10.3390/genes7120133
 43. Gonorazky H, Liang M, Cummings B, et al. RNA seq analysis for the diagnosis of muscular dystrophy. *Ann Clin Transl Neurol.* 2016;3(1):55–60. doi:10.1002/acn3.255
 44. Antonellis A, Dennis MY, Burzynski G, et al. A rare myelin protein zero (MPZ) variant alters enhancer activity in vitro and in vivo. *PLoS One.* 2010;5(12):e14346. doi:10.1371/journal.pone.0014346

Adresa za dopisivanje:

Dr. sc. **Tamara Vuk**, mag. biol. mol.
 Odjel za laboratorijsku citogenetiku
 Klinička bolnica Sveti Duh
 Sveti Duh 64, 10000 Zagreb
 e-mail: tvuk@kbsd.hr

SUMMARY

The role of coding and non-coding dna regions in the development of genetic disorders

Maja Oroz, Feodora Stipoljev, Ana Mustapić, Tamara Vuk

Objective: This review article examines the role of coding and non-coding regions of the human genome in the development of genetic disorders, with a particular focus on different types of genetic variants and their mechanisms of action.

Methods: A comprehensive analysis of the available scientific literature was conducted, focusing on the impact of single nucleotide variants, insertions, deletions, and copy number variations in both coding and non-coding regions of the genome. Special attention was given to mechanisms such as alterations in protein structure and function, regulation of gene expression, and effects on mRNA stability.

Results: Coding variants, including synonymous, nonsense, and missense variants, can significantly affect the structure, function, and stability of proteins, leading to various genetic disorders. Non-coding variants, located in cis- and trans-regulatory elements, play a crucial role in the regulation of gene expression, genome organization, and stabilization. Variants in non-coding regions can influence gene splicing, transcription, translation, and RNA stability, all of which may contribute to different pathological conditions.

Conclusion: Understanding the impact of genetic variants in coding and non-coding regions of the genome is essential for a deeper insight into the mechanisms of pathogenesis and the genetic basis of numerous diseases. The inclusion of non-coding variants in research could contribute to improved diagnostic and therapeutic approaches in medicine.

Key words: GENETIC DISEASES, INBORN; INTRONS; EXONS; CHROMOSOME STRUCTURES

Sekvenciranje sljedeće generacije (NGS) u Klinici za dječje bolesti Zagreb – što smo do sada naučili?

Ljubica Odak, Katarina Vulin, Ana-Marija Meašić,
Adriana Bobinec, Leona Morožin Pohovski*

Ključne riječi: SEKVENCIRANJE NOVE GENERACIJE; SEKVENCIRANJE EGZOMA; RAČUNALNI ALATI

Tehnologija sekvenciranja sljedeće generacije (NGS, engl. next generation sequencing) omogućila je sekvenciranje više stotina gena, štoviše i cijelog genoma u jednom koraku što je pokrenulo pravu revoluciju u dijagnostici poremećaja s nasljednom podlogom. Pored dijagnostičke, NGS tehnologija omogućila je i značajne terapijske iskorake što je vidljivo na primjerima nasljednih poremećaja za koje postoji ciljano liječenje (npr. epilepsije, metabolički poremećaji, maligne bolesti).

Razvoju NGS tehnologije uvelike je doprinio i napredak u razvoju bioinformatičkih tehnika analize genoma i računalnih alata koji omogućuju obradu podataka dobivenih sekvenciranjem te analizu i interpretaciju u kliničke i istraživačke svrhe.

U svakodnevnoj praksi, NGS dijagnostika odvija se kroz nekoliko faza; od inicijalnog uzimanja uzorka, izolacije DNA, kreiranja DNA knjižnice do samoga sekvenciranja kojim se dobivaju tzv. sirovi podaci (engl. raw data) koje je potrebno analizirati. NGS tehnologija se konstantno unaprjeđuje, počevši od automatizacije pojedinih dijelova protokola i razvoja alata za kontrolu kvalitete do računalnih alata za analizu varijanti koji se kontinuirano ažuriraju podacima o novim genima, sadržaju genomskih i literaturnih baza podataka.

Svjesni svih benefita ove tehnologije za zdravstvenu skrb oboljelih, u našoj Klinici NGS dijagnostiku implementirali smo prije više od 7 godina, inicijalno uvođenjem sekvenciranja kliničkog egzoma (CES, engl. clinical exome sequencing) te u zadnje vrijeme i implementiranjem cjeloegzomskog sekvenciranja (WES, engl. whole exome sequencing).

Iako je riječ o tehnologiji koja je značajno unaprijedila svakodnevni rad, za pravilnu primjenu važno je poznavanje njenih ograničenja. Naime, poznato je da ova tehnologija ima ograničenu učinkovitost u detekciji strukturnih varijanti i sekvenciranju homolognih gena, gena sa pseudogenima, GC bogatih regija te repetitivnih regija.

Na primjeru troje oboljelih prikazat ćemo neka od ograničenja s kojima smo se susretali u radu te naglasiti važnost poznavanja dodatnih alata u interpretaciji varijanti, fenotipizacije, poznavanja drugih dijagnostičkih metoda analize genoma i poznavanja mehanizama nastanka bolesti na genskoj razini.

Primjer 1. Pacijentica u dobi 17 godina dolazi na obradu primarne amenoreje, ageneze uterusa i anomalije rodnice. Učinjeni kariogram je bio 46,XY. Postavljena je klinička dijagnoza sindroma neosjetljivosti na androgene (AIS, engl. androgen

*Zavod za medicinsku i laboratorijsku genetiku, endokrinologiju i dijabetologiju s dnevnom bolnicom, Klinika za pedijatriju, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva 16, 10 000 Zagreb, član ERN-ITHACA, European Reference Network for Rare Malformation Syndromes, Intellectual and Other Neurodevelopmental Disorders

insensitivity syndrome) koji uzrokuju varijante u genu AR, koji kodira androgeni receptor. Nakon analize CES metodom, računalni alat za tercijarnu analizu podataka nije detektirao patološke promjene u AR genu, no uvidom u IGV preglednik (engl. Integrative Genomic Viewer) ustanovljen je izostanak očitavanja eksona 2-8/8 u AR genu. Kromosomskim microarray-em potvrđena je delecija na kromosomu X u regiji q12 veličine 96 kb koja zahvaća navedene eksone u AR genu.

Primjer 2. Pacijentica u dobi od 2 godine dolazi na obradu zbog koloboma šarenice, tetralogije Fallot, dismorfije i razvojnog zaostajanja. Postavljena je sumnja na CHARGE sindrom. Učinjena CES analiza prema HPO (engl. Human Phenotype Ontology) kodovima nije detektirala uzročnu patogenu varijantu. Naknadna WES analiza pokazala je heterozigotnu vjerojatno patogenu varijantu (PVS1, PM2) u genu CHD7 (NM_017780.4): c.6718del, p. Asp2240MetfsTer37. Uvidom u IGV preglednik, varijanta je vidljiva u objema dijagnostičkim platformama (CES i WES), ali ju je tijekom CES analize računalni alat odbacio zbog premalog broja očitavanja.

Primjer 3. Pacijent u dobi od 3 godine dolazi na obradu zbog mikrocitne anemije i makrokranije. CES metodom otkrivena je patogena varijanta; delecija 5 nukleotida na poziciji c.95+2_95+6 koja utječe na mjesto prekrajanja (engl. splice site) u genu HBA1 i/ili genu HBA2 (PVS1, PP5, PM2). Geni HBA1 i HBA2 su paralogni geni s izraženom homo-

logijom zbog čega ovom metodom sekvenciranja (engl. short read) nije moguće definirati u kojem od ova dva gena se nalazi navedena varijanta te je li riječ o homozigotnoj ili heterozigotnoj varijanti. Patogene varijante oba gena povezuju se s hemoglobinopatijama – alfa talasemijom. Tehnologija sekvenciranja dugih očitavanja (engl. long read) omogućila bi definiranje zigotnosti i gena na kojem se nalazi navedena varijanta.

LITERATURA

1. Corominas J, Smeekens SP, Nelen MR, et al. Clinical exome sequencing – mistakes and caveats. *Hum Mutat.* 2022;43(8):1041-55.
2. Liu Q, Yin X, Li P. Clinical characteristics, AR gene variants, and functional domains in 64 patients with androgen insensitivity syndrome. *J Endocrinol Invest.* 2023;46(1):151-8.
3. van Ravenswaaij-Arts C, Martin DM. New insights and advances in CHARGE syndrome: diagnosis, etiologies, treatments, and research discoveries. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2017;175(4):397-406.
4. Jiang F, Mao AP, Liu YY, et al. Detection of rare thalassemia mutations using long-read single-molecule real-time sequencing. *Gene.* 2022;825:146438.

Adresa za dopisivanje:

Doc. dr. sc. **Ljubica Odak**, dr. med.
Klinika za dječje bolesti Zagreb
Klaićeva 16, 10000 Zagreb
e-mail: ljubica.odak7@gmail.com

Cjeloegzomsko sekvenciranje u kliničkoj primjeni – iskustvo Kliničkog bolničkog centra Split

Bernarda Lozić¹, Marin Ogorevc², Tomislav Smoljo³, Dora Knezović¹

Cilj: izvijestiti o učinkovitosti cjeloegzomskog sekvenciranja (WES) kod bolesnika u Kliničkom bolničkom centru Split u razdoblju od siječnja 2021. do prosinca 2024.

Metode: Analiza WES-om provedena je kod 64 bolesnika s neurorazvojnim poremećajima, 20 bolesnika s malformacijama i 53 bolesnika s poremećajima koji primarno zahvaćaju jedan organski sustav.

Rezultati: Kod 34,38 % bolesnika s neurorazvojnim poremećajima je analiza WES-om dovela do uspostavljanja dijagnoze, kod 32,81 % pronađene su varijante u genima potencijalno povezanim s fenotipom, a kod 32,81 % nisu pronađene značajne varijante. U slučaju malformacija, kod 40 % je uspostavljena dijagnoza nakon analize WES-om, kod 35 % pronađene su varijante u genima potencijalno povezanim s fenotipom, a kod 25 % nisu pronađene značajne varijante. Od poremećaja koji primarno zahvaćaju jedan organski sustav, analiza WES-om je bila najuspješnija u slučaju neuromišićnih poremećaja (dijagnoza postavljena u 45,45 % slučajeva), a najmanjih uspjeh je utvrđen kod bolesnika s epilepsijom (dijagnoza postavljena u 16,67 %).

Zaključak: WES je učinkovit genetički test za bolesnike s neurorazvojnim poremećajima i malformacijama te bi se trebao koristiti rano u dijagnostičkoj obradi jer može dovesti do uspostavljanja dijagnoze kod velikog broja slučajeva, a od poremećaja koji primarno zahvaćaju jedan organski sustav, analiza WES-om je učinkovita za neuromišićne poremećaje, dok bi se za ostale poremećaje trebali primarno koristiti ciljani paneli gena ili sekvenciranje kliničkog egzoma.

Ključne riječi: NEURORAZVOJNI POREMEĆAJI; PRIROĐENE MALFORMACIJE; EGZOMSKO SEKVENCIRANJE; SEKVENCIRANJE SLJEDEĆE GENERACIJE

UVOD

Projekt ljudskog genoma i tehnološka dostignuća poput sekvenciranja sljedeće generacije (NGS, engl. *next-generation sequencing*) omogućili su

dijagnostičko sekvenciranje cijelog egzoma (WES, engl. *Whole Exome Sequencing*) ili sekvenciranje cijelog genoma (WGS, engl. *Whole Genome Sequencing*) u kliničkoj medicini, čime je omogućeno ispitivanje svih gena kod bolesnika s kompleksnim

¹ Klinika za dječje bolesti, Klinički bolnički centar Split, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Spinčičeva 1, 21000 Split

² Zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Klinički bolnički centar Split, Spinčičeva 1, 21000 Split

³ Klinika za onkologiju i radioterapiju, Klinički bolnički centar Split, Spinčičeva 1, 21000 Split

fenotipom, a time i mogućnost detekcije genetičkog uzroka bolesti (1, 2).

WES-om se analiziraju protein-kodirajuće regije (egzoni) od približno 23 000 gena koje obuhvaćaju oko 1,5 % – 2 % čitavog humanog genoma. Iako egzoni čine samo oko 2 % cijelog genoma, smatra se da se unutar njih nalazi oko 85 % svih poznatih varijanti koje uzrokuju nasljedne bolesti u ljudi. Ako se istovremeno sekvenciraju i egzoni dodatnih članova obitelji, kao u analizi klasičnog trio WES-a (dijete i oba biološka roditelja) povećava se vjerojatnost za pronalaženje genetskog uzroka fenotipa zbog mogućnosti otkrivanja *de novo* varijanti i određivanja pozicije složenih heterozigotnih varijanti u *cis* ili *trans* položaju. Analiza WES-a prvenstveno je usmjerena na gene za koje je prethodno utvrđena povezanost s genetskim bolestima u ljudi i u prosjeku se identificiraju uzročne varijante u rasponu od 25 do 40 % ispitanika (3-7). Nedavna analiza baze podataka Orphanet pokazala je da oko 3-6 % svjetske populacije ima rijetku bolest (tj. bolest s prevalencijom <1 u 2000 ljudi) i da 72 % rijetkih bolesti ima pronađen genetski uzrok (8). Međunarodni konzorcij za istraživanje rijetkih bolesti navodi da bi do 2027. godine svim bolesnicima koji dođu tražiti liječničku pomoć zbog sumnje na rijetku bolest dijagnoza trebala biti postavljena u roku od 1 godine, ako je dotični poremećaj opisan u medicinskoj literaturi. Ako analiza varijanti egzona gena za koje je prethodno utvrđena povezanost s bolestima u ljudi nije informativna, analiziraju se moguće varijante u kandidatnim genima koji za sada nisu povezani s bolestima, ali imaju molekularna svojstva koja upućuju da bi se u budućnosti mogli klasificirati kao uzročni za nastanak bolesti. Kontinuirano praćenje i proučavanje rezultata sekvenciranja egzoma i genoma iz različitih laboratorija diljem svijeta te povezivanje s fenotipom bolesnika putem internetskih platformi, može pomoći u određivanju jesu li nove varijante u kandidatnim genima povezane sa zdravstvenim stanjima bolesnika. Jedna od takvih platformi je GeneMatcher (<https://genematcher.org>), besplatna internet-ska baza podataka koje omogućuje povezivanje kliničara i istraživača iz cijelog svijeta koji proučavaju isti gen s ciljem utvrđivanja povezanosti gena s fenotipom (9).

ACMG (engl. American College of Medical Genetics and Genomics) preporučuje korištenje WES-a

kao testa prvog izbora (ili drugog izbora, ako fenotip indicira drugu vrstu genetskog testiranja) u bolesnika s jednom ili više prirođenih anomalija, razvojnim zaostajanjem i/ili intelektualnim poteškoćama s početkom prije dobi od 18 godina (10). Ovaj pristup ima kliničku korisnost jer značajno povećava vjerojatnost za pronalaženje genetskog uzroka kod bolesnika s ranom prezentacijom bolesti te složenim, heterogenim i nespecifičnim simptomima u usporedbi s manje obuhvatnim genetskim testiranjem specifičnog panela gena, što omogućava brže postavljanje dijagnoze (11). U ovom istraživanju prikazat će se klinička korisnost WES-a u pronalaženje genetskog uzroka kod naših bolesnika i naši rezultati će se usporediti s drugim kliničkim studijama.

ISPITANICI I METODE

U ovom radu prikazat će se rezultati analize WES-a i trio WES-a kod bolesnika iz Kliničkog bolničkog centra (KBC) Split kod kojih je analiza provedena u nekoliko dostupnih Europskih laboratorija (Blueprint Genetics, Gendia-Belgium, Centogene GmbH, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, University Medical Center Ljubljana). Sekvenciranje metodom po Sangeru i obiteljska segregacijska analiza su provedene u slučaju pronalaska patogenih/vjerojatnih patogenih varijanti ili varijanti nejasnog kliničkog značaja (VUS, engl. *variant of uncertain significance*) u probanda pri Kliničkoj bolnici Sveti Duh, Zagreb.

Kriteriji za testiranje bio je kompleksan fenotip bolesnika sa sumnjom na genetsku bolest, a uključuje sljedeće skupine bolesnika:

- 1) bolesnici s neurorazvojnim poremećajima (obuhvaća bolesnike s intelektualnim deficitom, globalnim razvojnim zaostajanjem i/ili poremećaj iz autističnog spektra);
- 2) bolesnici s malformacijama organa;
- 3) bolesnici s poremećajima koji zahvaćaju primarno jedan organski sustav, a prethodnim genetskim pretragama nije pronađena etiologija bolesti.

Kod svih je prethodno provedena sva potrebna multidisciplinarna klinička obrada, potom je uslijedila evaluacija prethodnih genetičkih nalaza među kojima su: sekvenciranje ciljanih genskih panela, komparativna genomska hibridizacija na mi-

Tablica 1. Rezultati WES-a ovisno o uputnoj dijagnozi

Uputna dijagnoza		Rezultati analize WES-a			
		Uspostavljena dijagnoza, N(%)	Pronađen VUS, N(%)	Negativna, N(%)	Ukupno, N
Neurorazvojni poremećaj		22 (34,38)	21 (32,81)	21 (32,81)	64
Malformacije organa		8 (40)	7 (35)	5 (25)	20
Poremećaji koji primarno zahvaćaju jedan organski sustav	Epilepsije	2 (16,67)	5 (41,67)	5 (41,67)	12
	Neuromišićni poremećaji	5 (45,45)	1 (9,09)	5 (45,45)	11
	Kardiovaskularni poremećaji	0 (0)	3 (60)	2 (40)	5
	Metabolički ili endokrini poremećaji	1 (20)	1 (20)	3 (60)	5
	Bolesti vezivnog tkiva	1 (20)	2 (40)	2 (40)	5
Ostalo		3 (20)	8 (53,33)	4 (26,67)	15
Ukupno		42 (30,66)	48 (35,03)	47 (34,31)	137

kropostroju (Array-CGH), analiza trinukleotidnog ponavljanja za Fragilni X sindrom te metilacijske studije.

Provedeno je genetsko savjetovanje s bolesnikom (ili njihovim skrbnikom), objašnjena svrha genetičkog test i mogući rezultati. Potpisan je informirani pristanak prema protokolima gore navedenih laboratorija i u skladu s deklaracijom iz Helsinkija te s uzorkom poslan u jedan od laboratorija.

Analizirani parametri vezani za bolesnike su: spol, dob u trenutku slanja na analizu te kategorija uputne dijagnoze. Analizirani parametri vezani za pronađene varijante su: zgotnost, učinak varijante na funkciju gena, ACMG klasifikacija i reklasifikacija varijante, način nasljeđivanja te segregacijska analiza. Rezultati istraživanja su analizirani s pomoću Microsoft Excel softvera.

REZULTATI

WES analize su napravljene tijekom četverogodišnjeg razdoblja u KBC-u Split. Napravljeno je 137 WES analiza, od čega je 56 probanada ženskog spola (40,88 %), a 81 muškog spola (59,12 %). Medijan dobi svih bolesnika je bio 5 godina (IQR 2-11 godina). Najčešća uputna dijagnoza je bila neurorazvojni poremećaj, a od poremećaja koji primarno zahvaćaju jedan organski sustav najčešća uputna dijagnoza bila je epilepsija (Tablica 1).

Kod 42 (30,66 %) bolesnika su pronađene varijante klasificirane kao patogene ili vjerojatno patogene i utvrđena je genetička etiologija njihovog fenotipa, od čega je 27 klasificirano izravno WES-om, a 15 je originalnim nalazom WES-a kla-

sificirano kao VUS, no nakon provedene segregacijske analize ili provjere ACMG kriterija prilikom kontrolnog pregleda je reklasificirano u patogenu ili vjerojatno patogenu varijantu. Kod 48 (35,03 %) bolesnika nije pronađena genetička etiologija fenotipa, ali su pronađeni VUS-ovi u genima potencijalno povezanim s fenotipom; kod 25 bolesnika su pronađeni VUS-ovi u poznatim uzročnim genima, a kod 23 u kandidatnim genima. Sve pronađene varijante u kandidatnim genima su prijavljene u Genematcher platformu. Kod 47 (34,31 %) bolesnika nisu pronađene potencijalno značajne varijante povezane s fenotipom. Od 42 pacijenta kojima je dijagnosticirana genetska bolest WES-om, 32 (76,19 %) je imalo autosomno dominantnu bolest (od toga su 2 bolesnika imala dvije autosomno dominantne bolesti, a jedan autosomno recesivnu i dominantnu bolest), 9 (21,43 %) bolesnika imalo je autosomno recesivnu bolest te 2 (4,76 %) X-vezanu bolest.

Sveukupno je pronađeno 138 varijanti potencijalno povezanih s fenotipom kod 91 bolesnika, od toga je kod 56 (61,54 %) bolesnika pronađena samo 1 varijanta, dok je kod ostalih 35 (38,46 %) pronađeno 2 ili više varijanti (najviše 4). Prema zgotnosti, 106 (76,81 %) varijanti je bilo u heterozigotnom obliku, 26 varijanti (18,84 %) u složenom heterozigotnom obliku, 1 (0,72 %) u homozigotnom te 5 (3,62 %) u hemizigotnom obliku. Prema vrsti varijante, 79 (57,25 %) varijanti je klasificirano kao *missense*, 14 (10,14 %) varijanti kao *stop gained*, 11 (7,97 %) varijanti kao *splicing* varijante, 12 (8,70 %) varijanti kao *frameshift deletion*, 9 (6,52 %) varijanti kao *frameshift duplication*, 5 (3,62 %) varijanti kao *inframe deletion*, 3 (2,17 %) varijanti kao *inframe duplication*.

varijante kao parcijalni geni, 2 (1,45 %) varijante kao intronske varijante, 2 (1,45 %) varijante kao duplikacije te 1 (0,72 %) varijanta kao *start loss* varijanta. Prema ACMG klasifikaciji, 95 (68,84 %) varijanti je originalno klasificirano kao VUS, 23 (16,67 %) kao vjerojatno patogene i 20 (14,49 %) kao patogene. Za 44 (45,45 %) varijante je provedena segregacijska analiza te je utvrđeno da je 20 (42,86 %) varijanti nastalo *de novo*, a 24 (54,55 %) naslijeđeno. Od 95 VUS varijanti, 17 (17,89 %) je naknadno reklasificirano, od toga 15 varijanti u patogenu ili vjerojatno patogenu i 2 varijante u benigne. Jedna vjerojatno patogena varijanta je reklasificirana u VUS.

RASPRAVA I ZAKLJUČCI

Najveća skupina bolesnika koja je bila podvrgnuta analizi WES-om u KBC-u Split tijekom promatranog perioda su bili bolesnici s neurorazvojnim poremećajem (46,72 %). To je u skladu s dosadašnjom medicinskom literaturom koja navodi kliničku korisnost WES analize u evaluaciji bolesnika s neurorazvojnim poremećajima (12). Štoviše, istraživanja navode da rana primjena dijagnostičkog WES-a kod bolesnika s neurorazvojnim poremećajima može dovesti i do sveukupnog smanjenja troškova dijagnostičke obrade (13). Neurorazvojni poremećaji imaju izrazitu genetičku heterogenost, a to je bio slučaj i kod naših bolesnika s obzirom na to da su svi imali jedinstvenu dijagnozu (Tablica 2).

Uspjeh WES-a u postavljanju dijagnoze i pronalasku varijanti u kandidatnim genima kod naših bolesnika prati trendove iz ostalih dijelova svijeta (4, 6, 7, 14-24). Bitno je naglasiti da su u tri istraživanja u kojima je stopa uspješnosti WES-a u postavljanju dijagnoze bila značajno veća od prosjeka bili uključeni većinom bolesnici iz konsagvinih obitelji Saudijske Arabije ili je istraživanje provedeno na maloj skupini odabranih ispitanika s popratnim anomalijama (Tablica 3).

Ukoliko se analizom WES-om ne pronađu značajne varijante kod bolesnika s neurorazvojnim poremećajima, ako je moguće, trebala bi se provesti analiza WGS-om. U jednom istraživanju na 50 bolesnika s teškim intelektualnim deficitom i negativnim genetičkim testovima (array-CGH i WES), analiza WGS-om je dovela do konačne dijagnoze u 21 (42 %) bolesnika (25). Stopa pronalaska vari-

Tablica 2. Bolesnici s neurorazvojnim poremećajima kojima je WES-om utvrđena dijagnoza

Dob (godine)	Spol	Gen	Vrsta varijante	OMIM bolesti
4	muški	CHD5	nonsense	#619873
2	muški	KDM5C	frameshift	#300534
2	ženski	CREBBP	missense	#180849
7	ženski	CDK13	frameshift	#617360
3	ženski	KDM6B	inframe deletion	#618505
15	ženski	SPEN	nonsense	#619312
9	ženski	TCF4	partial gene	#610954
9	muški	CHD3	missense	#618205
4	muški	KDM3B	missense	#618846
2	muški	ADSL	missense	#103050
5	muški	FOXP1	splicing	#613670
3	muški	LARP7	frameshift + nonsense	#615071
9	ženski	CUL3	frameshift	#619239
11	muški	CAMK2A	missense	#617798
1	muški	STAG1	frameshift	#617635
12	ženski	ARFGEF1	splicing	#619964
3	ženski	CACNA1A	missense	#617106
3	ženski	KCNC1	missense	#616187
5	ženski	AGO2	missense	#619149
11	muški	GRIN1	missense	#614254
18	muški	TLK2	partial gene	#618050
4	muški	ANK3	frameshift	#615493

janti u uzročnim i kandidatnim genima bila je još veća u istraživanju na maloj skupini bolesnika s intelektualnim deficitom i popratnim anomalijama središnjeg živčanog sustava (26). Stoga, analiza WES-om bi se trebala primijeniti što ranije kod bolesnika s neurorazvojnim poremećajima, a ukoliko bude negativna, bolesnici su kandidati za analizu WGS-om, osobito ako imaju i popratne anomalije.

U našoj skupini bolesnika s malformacijama analiza WES-om je dovela do konačne dijagnoze u 40 %, u 15 % su pronađeni VUS-ovi u poznatim uzročnim genima, a u 20 % su pronađene potencijalne uzročne varijante u kandidatnim genima, dok je za 25 % bolesnika analiza bila negativna. Bolesnici s malformacijama često imaju i popratno razvojno zaostajanje pa se svrstavaju u skupinu bolesnika s neurorazvojnim poremećajima, dok se bolesnici s malformacijama bez razvojnog zaostajanja obično analiziraju unutar svoje specifične

Tablica 3. Rezultati analize WES-om neurorazvojnih poremećaja u kliničkim istraživanjima

Članak	Utvrđena dijagnoza, N (%)	Pronađeni kandidatni geni, N (%)	Ukupan broj bolesnika u istraživanju, N	Država
Soden et al.	34 (40)	N.P.	85	SAD
Yang et al.	504 (25,2)	N.P.	2000	SAD
Lee et al.	45 (41)	N.P.	109	SAD
Need et al.	6 (50)	1 (8,33)	12	SAD
de Ligt et al.	16 (16)	N.P.	100	Nizozemska
Schuurs-Hoeijmakers et al.	3 (16)	5 (26)	19	Nizozemska
Willemsen et al.	24 (41,4)	N.P.	58	Nizozemska
Monroe et al.	5 (29,4)	N.P.	17	Nizozemska
Vissers et al.	44 (29,3)	41 (27,3)	150	Nizozemska
Thevenon et al.	14 (32,5)	N.P.	43	Francuska
Sawyer et al.	31 (31,6)	N.P.	98	Kanada
Deciphering Developmental Disorders Study	317 (28)	N.P.	1133	UK
Rauch et al.	16 (31,4)	3 (5,88)	51	Njemačka
Shaheen et al.	28 (90,3)	N.P.	31	Saudijska Arabija
Anazi et al.	91 (55)	56 (24)	232	Saudijska Arabija
Naše istraživanje	22 (34,38)	10 (15,62)	64	Hrvatska

N.P. – nije prijavljeno

skupine, poput bolesnika s kongenitalnim anomalijama bubrega i urotrakta. Stoga, većina radova o učinkovitosti WES-a u dijagnosticiranju bolesnika s malformacijama se provodi na fetalnim uzorcima za koje su kariotipizacijom i array-CGH-om utvrđeni normalni kariotipovi. U radu od Petrovski i sur. analiza WES-om je dovela do konačne dijagnoze u 10 % slučajeva, a u 20 % slučajeva su pronađeni VUS-ovi (27). Fu i sur. su s pomoću analize WES-om utvrdili konačnu dijagnozu u 24 % slučajeva, a pronašli su VUS-eve u 12,8 % slučajeva (28). Guo i sur. su pronašli uzročne varijante u 60 % slučajeva, a VUS-eve u 20 % slučajeva u svom istraživanju, no bitno je naglasiti da su koristili trio-WES, a analizirali su samo obitelji s ponavljanim fetalnim malformacijama (29). Sustavnim pregledom i metaanalizom na 17 članaka o dijagnostičkoj učinkovitosti WES-a za fetuse s multiplim malformacijama utvrđeno je da je analiza WES-om dovela do konačne dijagnoze za trećinu slučajeva (30). Pokazano je da je stopa učinkovitosti WES-a u postavljanju dijagnoze za pedijatrijske bolesnika s malformacijama značajno veća nego za fetuse, stoga naši rezultati nisu protivni trendovima u drugim dijelovima svijeta (31).

U slučaju poremećaja koji primarno zahvaćaju jedan organski sustav, a analizom specifičnih pa-

nela gena nije pronađena etiologija poremećaja, analizom WES-om je ustanovljena dijagnoza u oko petine slučajeva kod naših bolesnika. Među podskupinama, najveći uspjeh analize WES-om je bio u skupini bolesnika s neuromišićnim poremećajima, dok je najniži bio u skupini bolesnika s epilepsijama. Prema dosadašnjim istraživanjima, analizom WES-om moguće je postaviti genetičku dijagnozu neuromišićnog poremećaja u oko polovice slučajeva kod pedijatrijskih bolesnika, što se podudara s našim podacima (32). U istraživanju Perucca i sur. WES-om s analizom ciljanih gena vezanih uz epilepsiju utvrđena je dijagnoza u 12,5 % bolesnika, što je slično našim rezultatima, dok je korištenjem trio-WES-a za analizu pedijatrijskih bolesnika s neobjašnjenom epilepsijom utvrđena genetička dijagnoza u oko polovice bolesnika u istraživanju Chengyan i sur (33, 34).

Zaključno, WES je učinkovit genetički test za bolesnike s neurorazvojnim poremećajima i malformacijama te bi se trebao koristiti rano u dijagnostičkoj obradi jer može dovesti do uspostavljanja dijagnoze u oko trećine bolesnika, a u nekim slučajevima će se otkriti varijante u kandidatnim genima te se bolesnici mogu prijaviti u internacionalne baze podataka i na taj način pridonijeti uspostavljanju dijagnoze novih genetičkih bolesti. Od pore-

mećaja koji primarno zahvaćaju jedan organski sustav, analiza WES-om je učinkovita za neuromišićne poremećaje, dok bi se za ostale poremećaje trebali primarno koristiti ciljani paneli gena ili sekvenciranje kliničkog egzoma.

Kratice:

ACMG	– engl. <i>American College of Medical Genetics and Genomics</i>
Array-CGH	– komparativna genomska hibridizacija na mikropostroju
KBC	– klinički bolnički centar
NGS	– sekvenciranja slijedeće generacije (engl. <i>next-generation sequencing</i>)
VUS	– varijanta nejasnog kliničkog značenja (engl. <i>variant of uncertain significance</i>)
WES	– cjeloegzomsko sekvenciranje (engl. <i>whole exome sequencing</i>)
WGS	– cjelogenomsko sekvenciranje (engl. <i>whole genome sequencing</i>)

LITERATURA

- Collins FS, Green ED, Guttmacher AE, Guyer MS. A vision for the future of genomics research. *Nature*. 2003;422(6934):835–47. doi:10.1038/nature01626
- Smith ED, Blanco K, Sajan SA, Hunter JM, Shinde DN, Wayburn B, et al. A retrospective review of multiple findings in diagnostic exome sequencing: half are distinct and half are overlapping diagnoses. *Genet Med*. 2019;21(10):2199–207. doi:10.1038/s41436-019-0477-2
- Seaby EG, Pengelly RJ, Ennis S. Exome sequencing explained: a practical guide to its clinical application. *Brief Funct Genomics*. 2015;15(5):374–84. doi:10.1093/bfpg/elv054
- Sawyer SL, Hartley T, Dymant DA, Beaulieu CL, Schwartzentruber J, Smith A, et al. Utility of whole-exome sequencing for those near the end of the diagnostic odyssey: time to address gaps in care. *Clin Genet*. 2015;89(3):275–84. doi:10.1111/cge.12654
- Marinakakis NM, Svingou M, Veltra D, Kekou K, Sofocleous C, Tilemis F, et al. Phenotype-driven variant filtration strategy in exome sequencing toward a high diagnostic yield and identification of 85 novel variants in 400 patients with rare Mendelian disorders. *Am J Med Genet A*. 2021;185(8):2561–71. doi:10.1002/ajmg.a.62338
- Yang Y, Muzny DM, Xia F, Niu Z, Person R, Ding Y, et al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing. *JAMA*. 2014;312(18):1870–9. doi:10.1001/jama.2014.14601
- Lee H, Deignan JL, Dorrani N, Strom SP, Kantarci S, Quintero-Rivera F, et al. Clinical exome sequencing for genetic identification of rare Mendelian disorders. *JAMA*. 2014;312(18):1880. doi:10.1001/jama.2014.14604
- Nguengang Wakap S, Lambert DM, Olry A, Rodwell C, Gueydan C, Lanneau V, et al. Estimating cumulative point prevalence of rare diseases: analysis of the Orphanet database. *Eur J Hum Genet*. 2019;28(1):165–73. doi:10.1038/s41431-019-0508-0
- Philippakis AA, Azzariti DR, Beltran S, Brookes AJ, Brownstein CA, Brudno M, et al. The Matchmaker Exchange: a platform for rare disease gene discovery. *Hum Mutat*. 2015;36(10):915–21. doi:10.1002/humu.22858
- Manickam K, McClain MR, Demmer LA, Biswas S, Kearney HM, Malinowski J, et al. Exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability: an evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med*. 2021;23(11):2029–37. doi:10.1038/s41436-021-01242-6
- Srivastava S, Love-Nichols JA, Dies KA, Ledbetter DH, Martin CL, Chung WK, et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genet Med*. 2019;21(11):2413–21. doi:10.1038/s41436-019-0554-6
- Biesecker LG, Green RC. Diagnostic clinical genome and exome sequencing. *N Engl J Med*. 2014;370(25):2418–25. doi:10.1056/NEJMra1312543
- Stark Z, Schofield D, Alam K, Wilson W, Mupfeki N, Macciocca I, et al. Prospective comparison of the cost-effectiveness of clinical whole-exome sequencing with that of usual care overwhelmingly supports early use and reimbursement. *Genet Med*. 2017;19(8):867–74. doi:10.1038/gim.2016.221
- Soden SE, Saunders CJ, Willig LK, Farrow EG, Smith LD, Petrikin JE, et al. Effectiveness of exome and genome sequencing guided by acuity of illness for diagnosis of neurodevelopmental disorders. *Sci Transl Med*. 2014;6(265):265ra168. doi:10.1126/scitranslmed.3010076
- Need AC, Shashi V, Hitomi Y, Schoch K, Shianna KV, McDonald MT, et al. Clinical application of exome sequencing in undiagnosed genetic conditions. *J Med Genet*. 2012;49(6):353–61. doi:10.1136/jmedgenet-2012-100819
- de Ligt J, Willemsen MH, van Bon BWM, Kleefstra T, Yntema HG, Kroes T, et al. Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. *N Engl J Med*. 2012;367(20):1921–9. doi:10.1056/NEJMoa1206524
- Schuurs-Hoeijmakers JHM, Vulto-van Silfhout AT, Vissers LELM, van de Vondervoort IIGM, van Bon BWM, de Ligt J, et al. Identification of pathogenic gene variants in small families with intellectually disabled siblings by exome sequencing. *J Med Genet*. 2013;50(12):802–11. doi:10.1136/jmedgenet-2013-101644
- Willemsen MH, Kleefstra T. Making headway with genetic diagnostics of intellectual disabilities. *Clin Genet*. 2013;85(2):101–10. doi:10.1111/cge.12244

19. Monroe GR, Frederix GW, Savelberg SMC, de Vries TI, Duran KJ, van der Smagt JJ, et al. Effectiveness of whole-exome sequencing and costs of the traditional diagnostic trajectory in children with intellectual disability. *Genet Med*. 2016;18(9):949–56. doi:10.1038/gim.2015.200
20. Vissers LELM, van Nimwegen KJM, Schieving JH, Kamsteeg EJ, Kleefstra T, Yntema HG, et al. A clinical utility study of exome sequencing versus conventional genetic testing in pediatric neurology. *Genet Med*. 2017;19(9):1055–63. doi:10.1038/gim.2017.1
21. Thevenon J, Duffourd Y, Masurel-Paulet A, Lefebvre M, Feillet F, El Chehadeh-Djebbar S, et al. Diagnostic odyssey in severe neurodevelopmental disorders: toward clinical whole-exome sequencing as a first-line diagnostic test. *Clin Genet*. 2016;89(6):700–7. doi:10.1111/cge.12732
22. Rauch A, Wiczorek D, Graf E, Wieland T, Ende S, Schwarzmayr T, et al. Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. *Lancet*. 2012;380(9854):1674–82. doi:10.1016/S0140-6736(12)61480-9
23. Shaheen R, Patel N, Shamseldin H, Alzahrani F, Al-Yamany R, Al Moisher A, et al. Accelerating matchmaking of novel dysmorphology syndromes through clinical and genomic characterization of a large cohort. *Genet Med*. 2015;18(7):686–95. doi:10.1038/gim.2015.147
24. Anazi S, Maddirevula S, Faqeih E, Alsedairy H, Alzahrani F, Shamseldin HE, et al. Clinical genomics expands the morbid genome of intellectual disability and offers a high diagnostic yield. *Mol Psychiatry*. 2016;22(4):615–24. doi:10.1038/mp.2016.113
25. Gilissen C, Hehir-Kwa JY, Thung DT, van de Vorst M, van Bon BWM, Willemsen MH, et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature*. 2014;511(7509):344–7. doi:10.1038/nature13394
26. Zahir FR, Mwenifumbo JC, Chun HJE, Lim EL, Van Karnebeek CDM, Couse M, et al. Comprehensive whole genome sequence analyses yield novel genetic and structural insights for intellectual disability. *BMC Genomics*. 2017;18(1). doi:10.1186/s12864-017-3671-0
27. Petrovski S, Aggarwal V, Giordano JL, Stosic M, Wou K, Bier L, et al. Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study. *Lancet*. 2019;393(10173):758–67. doi:10.1016/S0140-6736(18)32042-7
28. Fu F, Li R, Li Y, Nie ZQ, Lei T, Wang D, et al. Whole exome sequencing as a diagnostic adjunct to clinical testing in fetuses with structural abnormalities. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018;51(4):493–502. doi:10.1002/uog.18915
29. Guo W, Lai Y, Yan Z, Wang Y, Nie Y, Guan S, et al. Trio-whole-exome sequencing and preimplantation genetic diagnosis for unexplained recurrent fetal malformations. *Hum Mutat*. 2019;41(2):432–48. doi:10.1002/humu.23935
30. Pauta M, Martinez-Portilla RJ, Borrell A. Diagnostic yield of exome sequencing in fetuses with multisystem malformations: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2022;59(6):715–22. doi:10.1002/uog.24862
31. Slavotinek A, Rego S, Sahin-Hodoglugil N, Kvale M, Lianoglou B, Yip T, et al. Diagnostic yield of pediatric and prenatal exome sequencing in a diverse population. *NPJ Genom Med*. 2023;8(1). doi:10.1038/s41525-023-00353-0
32. Piñeros-Fernández MC, Morte B, García-Giménez JL. Utility of exome sequencing for the diagnosis of pediatric-onset neuromuscular diseases beyond diagnostic yield: a narrative review. *Neurol Sci*. 2024;45(4):1455–64. doi:10.1007/s10072-023-07210-z
33. Perucca P, Scheffer IE, Harvey AS, James PA, Lunke S, Thorne N, et al. Real-world utility of whole exome sequencing with targeted gene analysis for focal epilepsy. *Epilepsy Res*. 2017;131:1–8. doi:10.1016/j.eplepsyres.2017.02.001
34. Chengyan L, Chupeng X, You W, Yinhui C, Binglong H, Dang A, et al. Identification of genetic causes in children with unexplained epilepsy based on trio-whole-exome sequencing. *Clin Genet*. 2024;106(2):140–9. doi:10.1111/cge.14519

Adresa za dopisivanje:

Doc. dr. sc. **Bernarda Lozić**, dr. med.

Klinika za dječje bolesti, Klinički bolnički centar Split
Spinčičeva 1, 21 000 Split, Hrvatska

e-mail: blozic@kbsplit.hr

SUMMARY

Whole-exome sequencing in clinical application - experience of the Clinical Hospital Center Split

Bernarda Lozić, Marin Ogorevc, Tomislav Smoljo, Dora Knezović

Objective: To report on the effectiveness of whole-exome sequencing (WES) in patients at the University Hospital of Split from January 2021 to December 2024.

Methods: WES analysis was performed in 64 patients with neurodevelopmental disorders, 20 patients with malformations, and 53 patients with disorders primarily affecting one organ system.

Results: WES analysis led to a diagnosis in 34.38 % of patients with neurodevelopmental disorders, variants in genes potentially associated with the phenotype were found in 32.81 %, and in 32.81 % no significant variants were found. In the case of malformations, a diagnosis was established after WES analysis in 40 % of patients, variants in genes potentially associated with the phenotype were found in 35 %, and no significant variants were found in 25 %. Among disorders that primarily affect one organ system, WES analysis was most successful in the case of neuromuscular disorders (diagnosis established in 45.45 % of cases), and the least successful in patients with epilepsy (diagnosis established in 16.67 %).

Conclusion: WES is an effective genetic test for patients with neurodevelopmental disorders and malformations and should be used early in the diagnostic workup because it can lead to the establishment of a diagnosis in a large number of cases. As for disorders that primarily affect one organ system, WES analysis is effective for neuromuscular disorders, while for other disorders, targeted gene panels or clinical exome sequencing should be primarily used.

Key words: NEURODEVELOPMENTAL DISORDERS; CONGENITAL ABNORMALITIES;
EXOME SEQUENCING; HIGH-THROUGHPUT NUCLEOTIDE SEQUENCING

Genomska dijagnostika neurorazvojnih poremećaja: trenutne mogućnosti i potencijal u budućnosti

Ljubica Odak, Katarina Vulin, Leona Morožin Pohovski, Ivona Sansović,
Ana-Marija Meašić, Adriana Bobinec, Morana Mikloš*

Neurorazvojni poremećaji predstavljaju heterogenu skupinu razvojnih poremećaja čije osnovno obilježje čine odstupanja u kognitivnom, emocionalnom, motoričkom i socijalnom razvoju. Pored navedenoga, oboljeli često imaju i druga razvojna odstupanja: dismorfiju, kongenitalne anomalije, epilepsiju i različite funkcijske poremećaje. Etiološki, riječ je o poremećajima kompleksne etiologije koja uključuje različite genomske alteracije, epigenetičke mehanizme te čimbenike okoliša i gensko-okolišne interakcije. Poznavanje genomske dijagnoze i mehanizma nastanka bolesti važno je kako bi se primijenili odgovarajući terapijski postupci, prevenirali potencijalni pridruženi zdravstveni rizici te ustanovio rizik ponavljanja i identificirali članovi obitelji pod rizikom. Do unatrag 15-ak godina, metodama klasične i molekularne genetike bilo je moguće ustanoviti genomsku podlogu u 10-15 % oboljelih. Uvođenjem tehnologije sekvenciranja sljedeće generacije koja nudi mogućnost simultane analize velikog broja gena od interesa te cijelog egzoma/genoma, značajno je unaprijeđena dijagnostika neurorazvojnih poremećaja. Navedena tehnologija predstavlja poveznicu između metoda molekularne biologije, računalne tehnologije i kliničke genetike. Iako je napredak u dijagnostici korištenjem ovih metoda impresivan, u velikog broja oboljelih genomska dijagnoza nije rasvijetljena. Paralelno, razvijaju se i druge tehnološke platforme za analizu genoma poput analize metilacijskih obrazaca (episign), još naprednije tehnologije sekvenciranja genoma (long read), RNA sekvenciranja te analize strukturalnih varijanti u genomu tehnologijom optičkog genomskog mapiranja. Razvoj ovih metoda će zasigurno unaprijediti genomsku dijagnostiku neurorazvojnih poremećaja te stvoriti okvire za istraživanje perspektivnih terapijskih postupaka.

Ključne riječi: NEURODAZVOJNI POREMEĆAJI; GENOM; DIJAGNOSTIČKE TEHNIKE I POSTUPCI

DEFINICIJA I ETIOLOGIJA NEURORAZVOJNIH POREMEĆAJA

Neurorazvojni poremećaji su skupina poremećaja koji nastaju zbog atipičnog razvoja središnjeg živčanog sustava, a manifestiraju se u ranom djetinjstvu kroz poteškoće u kognitivnim, emocionalnim, motoričkim i socijalnim funkcijama (1).

Prema DSM-5 (Dijagnostičkom i statističkom priručniku za mentalne poremećaje, peta revizija), neurorazvojni poremećaji uključuju: intelektualne

*Zavod za medicinsku i laboratorijsku genetiku, endokrinologiju i dijabetologiju s dnevnom bolnicom, Klinika za pedijatriju, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva 16, 10 000 Zagreb, član ERN-ITHACA, European Reference Network for Rare Malformation Syndromes, Intellectual and Other Neurodevelopmental Disorders

poteškoće, poremećaj iz spektra autizma, poremećaj pažnje s hiperaktivnošću (ADHD), specifične teškoće u učenju, poremećaje motorike, komunikacijske poremećaje, te tikove.

Neurorazvojni poremećaji mogu se javljati kao izolirana odstupanja ili kao kombinacija više neurorazvojnih poremećaja (primjerice poremećaj iz spektra autizma udružen s intelektualnim poteškoćama).

Osim toga, kod djece s neurorazvojnim odstupanjima česte su i pridružene kongenitalne anomalije, epilepsija, dismorfija te poremećaji osjeta (vida, sluha, senzorne integracije) čineći tako sindromske neurorazvojne poremećaje. Ovi poremećaji su vrlo izazovni za kliničko postavljanje precizne dijagnoze zbog svoje brojnosti i zbog vrlo heterogene nasljedne etiologije. Također, s jedne strane često dolazi do preklapanja kliničkih obilježja, a s druge strane postoji velika fenotipska varijabilnost, čak i unutar iste obitelji (primjerice dijete s razvojnim zaostajanjem, dismorfijom i srčanom grješkom može imati roditelja sa shizofrenijom, u slučaju mikroleucije 22q11.2 naslijeđene od roditelja). Stoga molekularna dijagnostika ima ključnu ulogu u preciznom dijagnosticiranju ovih poremećaja.

Prevalencija neurorazvojnih poremećaja procjenjuje se na 3–5 % u općoj populaciji s tendencijom rasta u posljednjih desetak godina. Budući da ovi poremećaji značajno ometaju svakodnevno funkcioniranje te zahtijevaju brojne dijagnostičke i rehabilitacijske postupke, predstavljaju važan javnozdravstveni problem.

Etiologija neurorazvojnih poremećaja izrazito je heterogena, te uključuje kromosomske, genetičke, epigenetičke i okolišne čimbenike, kao i složene gensko-okolišne interakcije (2, 3).

Već su sedamdesetih godina prošlog stoljeća studije blizanaca s neurorazvojnim poremećajima pokazale znatno veću učestalost ovih poremećaja kod jednojajčanih blizanaca u usporedbi s dvojajčanima, što je ukazalo na vrlo vjerojatnu nasljednu etiologiju.

Istraživanja genomske podloge identificirala su dijelove kromosoma čije alteracije dovode do nastanka neurorazvojnih poremećaja. Riječ je ponajprije o manjku ili višku kromosomskog materijala tzv. varijacijama u broju kopija genoma (CNV, engl. *copy number variants*), odnosno delecijama/

duplikacijama ili složenim preslagivanjima koja remete arhitekturu genoma i optimalnu gensku dozažu potrebnu za normalan razvoj središnjeg živčanog sustava, rad sinapsi, metabolizam neurona, ali i niz drugih temeljnih staničnih procesa (transkripcije, translacije) neophodnih za normalan razvoj mozga i cijeloga organizma.

Dosada je identificirano i više od 1000 gena čije mutacije nedvojbeno uzrokuju neurorazvojne poremećaje te preko 300 potencijalnih gena kandidata čije se alteracije dovode u vezu s njihovim razvojem. Najčešće je riječ o *de novo* varijantama koje dovode do disrupcije gena (*frameshift*, *stop-gain*, *splice-donor* i *splice-acceptor* varijante), dok su rjeđe prisutne ultra rijetke naslijeđene varijante u genima osjetljivim na disrupciju. S funkcijskog aspekta, riječ je o genima uključenima u sinaptogenezu, aktivnost signalnih puteva, regulaciju transkripcije drugih gena važnih za neurorazvoj, diferencijaciju neuronalnih prekursorskih stanica, receptore neurotransmitera, ionske kanale, razvoj neurona, staničnu diobu, rast i formiranje aksona i dendrita.

Novija istraživanja patogeneze ovih poremećaja ukazuju i na značajnu ulogu regulatornih elemenata genoma, poput molekula microRNA koje reguliraju gensku ekspresiju, te epigenetičkih alteracija (4, 5).

Osim toga, brojna istraživanja ističu poligensku i multifaktorsku prirodu poremećaja. Prema poligenskom modelu, varijante u većem broju gena imaju kumulativan učinak na razvoj poremećaja, dok multifaktorski model dodatno naglašava važnost okolišnih čimbenika poput perinatalne hipoksije, ranih ozljeda mozga, izlaganja teratogenima te složenih gensko-okolišnih interakcija koje dovode do aberantne genske ekspresije i poremećaja u funkciji signalnih puteva uključenih u neurorazvoj.

Zahvaljujući razvoju molekularne biologije, posebno sekvenciranju humanog genoma, te napretku tehnologija molekularne citogenetike i sekvenciranja novije generacije (NGS, engl. *next generation sequencing*), rasvijetljena je genomska podloga brojnih neurorazvojnih poremećaja. Ova otkrića unaprijedila su razumijevanje patogeneze i patofiziologije, te skratila put do postavljanja uzročne dijagnoze. Precizna genomska dijagnoza omogućuje poboljšanje kliničke skrbi oboljelih kroz per-

sonalizirane mjere praćenja, rano prepoznavanje zdravstvenih rizika, te identifikaciju članova u obitelji pod rizikom. Također omogućuje procjenu rizika ponavljanja u idućim trudnoćama uz odgovarajuće genetsko savjetovanje. Definiranje genomske podloge neurorazvojnih poremećaja pruža i temelj za razvoj potencijalnih terapijskih opcija u budućnosti.

METODE KLASIČNE I MOLEKULARNE GENETIKE

Sve do unatrag 20-ak godina, genetička dijagnostika neurorazvojnih poremećaja svodila se na primjenu metoda klasične kariotipizacije tehnikom pruganja kromosoma po Giemsi. Ovom metodom detektiraju se strukturne i numeričke aberacije kromosoma rezolucije veće od 5 Mb, čime je bilo moguće otkriti uzrok neurorazvojnih odstupanja u svega 1-2 % oboljelih. Dijagnostika se također u velikoj mjeri svodila i na postavljanje kliničkih dijagnoza na temelju karakterističnih kliničkih obilježja, te zadovoljavanjem određenih kliničkih kriterija (6). Rijetko su bile dostupne i ciljane metode za dijagnostiku nekog neurorazvojnog poremećaja (poput PCR-a, engl. *polymerase chain reaction*, za sindrom fragilnog X ili sekvenciranje cijelog gena ili egzona u kojem su njegove najčešće mutacije npr. kod sumnje na Rett sindrom).

Razvoj molekularne citogenetike donio je metode poput fluorescentne in situ hibridizacije (FISH, engl. *Fluorescent In Situ Hybridization*) i metode višestrukog umnažanja vezanih sonda (MLPA, engl. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), koje omogućuju ciljano ispitivanje pojedinih regija genoma (7, 8). U dijagnostici neurorazvojnih poremećaja tako su često bile analizirane regije 22q11.2 (di George sindrom), 7q11.23 (sindrom Williams) ili npr. subtelomerne regije kromosoma.

Daljnji razvoj molekularnih metoda doveo je do razvoja metode komparativne genomske hibridizacije (CMA, engl. *Chromosomal Microarray Analysis* ili aCGH, engl. *Array Comparative Genomic Hybridization*) kojom je moguće ustanoviti varijacije u broju kopija genoma (CNV, engl. *copy number variants*), odnosno mikrolecije i mikroduplicacije na znatno većoj rezoluciji od klasične kariotipizacije, u prosjeku od 50-ak kilobaza i manje (10 kb unutar ciljanih regija) (9, 10).

CNV-evi ne moraju nužno biti patogeni i uzrokovati bolest. CNV se na temelju ACMG/AMP smjernica (engl. *American College of Medical Genetics and Genomics/ Association for Molecular Pathology*) klasificiraju u 5 kategorija: benigne, vjerojatno benigne, varijante nepoznatog značenja (VUS, engl. *variants of unknown significance*), vjerojatno patogene i patogene varijante.

U kliničkom smislu, fenotip mikrolepcijskih/mikroduplicacijskih sindroma posljedica je haploinsuficijencije gena ili pak njegove neoptimalne dozaže, izostanka njegovog proteinskog produkta, stvaranja aberantnog produkta ali i drugih mehanizama poput ometene regulatorne funkcije gena (11).

CMA metoda se koristi u rutinskoj praksi zadnjih 15-ak godina i omogućuje otkrivanje etiologije neurorazvojnih poremećaja u 10-20 % slučajeva. Najčešće zahvaćene regije uključuju 1q21.1, 2q13, 3q29, 7q11.23, 8q24, 9q34, 15q11.2, 15q13.3, 16p11.2, 17p11.2, 22q11.2, 22q13 (12). Prema smjernica ACMG-a iz 2010. godine, ova metoda predstavljala je prvu metodu izbora u dijagnostici pacijenata s razvojnim zaostajanjem/intelektualnim poteškoćama, autizmom i kongenitalnim anomalijama (9). Nedostatak ove metode je nemogućnost detekcije balansiranih promjena (poput translokacija i inverzija), mozaičnih promjena u malom udjelu, varijanti jednog nukleotida (SNV, engl. *single nucleotide variants*), malih insercija i delecija (indela), trinukleotidnih ponavljanja.

Razvoj tehnologije NGS-a uz kreiranje platformi koje omogućuju simultano sekvenciranje većeg broja gena doveo je do razvoja metoda kojima je moguće dijagnosticirati monogenske poremećaje korištenjem analize genskih panela, sekvenciranja kliničkog egzoma, cijelog egzoma i cijelog genoma (13, 14). NGS tehnologija generira veliku količinu genomskih podataka koje je potrebno procesirati, analizirati, interpretirati i pohraniti. Ova tehnologija zahtijeva dobru računalnu (hardversku) infrastrukturu te sofisticirane algoritme i softverske aplikacije za analizu podataka. Obradom sirovih podataka (engl. *raw data*) dobiju se interpretabilni podatci koji se uspoređuju s referentnim genomom te interpretiraju u skladu s kliničkom slikom pacijenta. Ključni dio ove tehnologije čine kompleksni algoritmi (engl. *pipeline*) za procesiranje podataka dobivenih sekvenciranjem koji omogu-

ćuju identifikaciju genetskih varijanti i usporedbu s referentnim genomom. NGS tehnologija zahtijeva i kontinuirano ažuriranje softverskih alata, baza podataka, stručne i znanstvene literature kako bi analiza bila precizna i relevantna (15).

Interpretacija varijanti dobivenih NGS-om također se provodi korištenjem ACMG/AMP smjernica pri čemu se varijante, kao i kod CNV-a, klasificiraju u 5 kategorija: benigne, vjerojatno benigne, varijante nepoznatog značenja, vjerojatno patogene i patogene varijante (16). Tijekom vremena, zbog ustanovljenih novih spoznaja o funkcijskim obilježjima varijanti, njihovoj populacijskoj učestalosti te funkciji samoga analiziranog gena moguća je reklasifikacija varijanti iz jedne kategorije u drugu.

Uvođenjem NGS metoda, genomska dijagnostika neurorazvojnih poremećaja provodi se na nekoliko razina: analizom genskih panela, kliničkog egzoma, analizom cijelog egzoma i analizom cijelog genoma.

Genski paneli omogućuju ciljanu analizu odabranog seta gena, poput panela za epilepsije, neurorazvojne poremećaje ili intelektualne poteškoće (17, 18).

Najčešće je riječ o panelima koji sadrže unaprijed fiksno definirani set gena. Prednost takvih genskih panela je dobra dubina sekvenciranja (veći broj očitavanja istog gena/genske regije) što omogućuje veću osjetljivost i detekciju genskih alteracija, uključujući i mozaične oblike. Također, paneli često nude i mogućnost detekcije egzonskih delecija/duplikacija te od ranije poznatih intronskih varijanti koje mogu uzrokovati poremećaj. Nedostatak ove metode je fiksno odabrana kombinacija gena za analizu, što onemogućuje detekciju varijanti u genima koji nisu obuhvaćeni panelom i ne omogućuje otkrivanje kandidatnih gena za određeni poremećaj.

Druga opcija su virtualni genski paneli, gdje se iz podataka dobivenih sekvenciranjem egzoma/genoma, odabiru i analiziraju samo određene skupine gena. Ako se analizom virtualnog panela ne pronađe tražena varijanta, moguća je daljnja analiza preostalih gena. Nedostatak ove metode je manja dubina sekvenciranja, što znači i manju osjetljivost pretrage.

Klinički egzom (CES, engl. *clinical exome sequencing*) omogućuje simultanu analizu velikog broja

gena uključenih u različite razvojne procese. Ovisno o platformi, moguće je analizirati 4, 6 i više tisuća gena od interesa (19). Ova metoda pokazala se učinkovitom u dijagnostici Mendelski nasljednih poremećaja s definiranim fenotipom. Dijagnostički doprinos metode, prema literaturi varira 22 – 36 %, ovisno o kohorti analiziranih pacijenata (20, 21). Dijagnostički doprinos moguće je naknadno povećati reanalizom sekvenciranih podataka. U praksi, reanaliza se najčešće primjenjuje kada se jave nova fenotipska obilježja kod pacijenta što ukazuje na važnost precizne fenotipizacije i odabira HPO termina (engl. *Human Phenotype Ontology*) za svako fenotipsko obilježje za koje se provodi analiza podataka. Zahvaljujući otkrićima novih funkcija gena, boljim bioinformatičkim alatima i reanalizi kliničkih obilježja, dijagnostički doprinos je moguće povećati i do 10 % (22). U Klinici za dječje bolesti Zagreb, analizu kliničkog egzoma uveli smo prije 7 godina. Klinički egzom korišten u našoj ustanovi sadrži 4831 gen uključen u razvojne procese. Dosada je obrađeno više od 800 djece s neurorazvojnim poremećajima i pridruženim komorbiditetima, s dijagnostičkim doprinosom 23 % u prvim godinama te 29 % u posljednje dvije godine.

Sekvenciranje cijelog egzoma (WES, engl. *whole exome sequencing*) omogućuje analizu egzona svih gena u genomu. Zbog većeg opsega analiziranih gena te paralelnog razvoja bioinformatičkih alata, WES se brzo nametnuo kao metoda prvog izbora u dijagnostici nasljednih poremećaja heterogene genomske podloge i preklapajućih fenotipa, poput neurorazvojnih poremećaja. U novije vrijeme, platforme za WES analizu nude mogućnost i istodobne analize CNV-eva, što dodatno povećava dijagnostičku vrijednost metode. Kao i kod CES metode, ključna je prethodna detaljna klinička obrada i fenotipizacija prema HPO nomenklaturi.

Dijagnostički doprinos WES metode kreće se od 30-70 %, ovisno o analiziranim kohortama pacijenata (23, 24). Najveći dijagnostički doprinos zabilježen je u populaciji s visokom stopom konsangvinteta. Istodobnim provođenjem analize roditelja (tzv. trio analiza) omogućena je brza detekcija *de novo* varijanti i bolja klasifikacija ostalih varijanti čime je ubrzan dijagnostički proces (25). Kao i kod CES metode, postoji mogućnost nak-

naadne reanalize podataka, kojom je moguće povećati dijagnostički doprinos i do 30 % (26). Najveći dijagnostički doprinos (>50 %) zabilježen je kod djece sa sindromskim fenotipom, koji uključuje neurorazvojne poremećaje i druga pridružena odstupanja poput epilepsije i dismorfije. U tim slučajevima, najčešći uzrok su bile *de novo* patogene varijante u genima za monogenske poremećaje (SNV-i). Najmanji dijagnostički doprinos zabilježen je u slučajevima autizma bez drugih odstupanja (3,5 %) (27).

Sekvenciranje cijelog genoma (WGS, engl. *whole genome sequencing*) uključuje sekvenciranje svih kodirajućih i nekodirajućih dijelova genoma. S tehnološkog aspekta WGS ima niz prednosti u odnosu na WES, poput boljeg sekvenciranja novo-označenih kodirajućih regija, ne-kodirajućih regija, tj. introna i regija koje su same po sebi tehnički zahtjevnije za sekvenciranje, te ima veću osjetljivost u detekciji strukturalnih varijanti, posebice CNV-a, kratkih ponavljajućih regija i mitohondrijskih varijanti. WGS u usporedbi s ostalim genomskim metodama generira najveću količinu podataka koje je potrebno bioinformatički obraditi i interpretirati u kliničkom kontekstu. Dijagnostički doprinos WGS metode je nešto veći od WES-a (za 1-15 %, ovisno o analiziranim kohortama). Najveći dijagnostički doprinos ostvaren je u kohortama pacijenata s težom kliničkom slikom, težim intelektualnim poteškoćama i prisustvom komorbiditeta (28, 29).

Usporedna studija istovremene analize WES-a i WGS-a, u kohorti od 150 pacijenata, pokazala je neznatan porast dijagnostičkog doprinosa od svega 1.3 % korištenjem WGS-a (30). Iako se sve češće opisuju duboke intronske varijante (engl. *deep intronic variants*) koje remete prekranje (engl. *splicing*) te na taj način remete funkciju proteina, njihova interpretacija je otežana zbog nedostatka podataka o funkcijskim efektima. Funkcijske studije koje bi dale preciznije zaključke o patogenosti intronskih varijanti su tehnički i vremenski zahtjevne, što ih čini nepraktičnima za rutinsku kliničku praksu. Osim toga, WGS zahtjeva najsloženiju tehnologiju i bioinformatičku potporu, što rezultira visokom cijenom pretrage. Zbog toga je i implementacija ove pretrage u rutinsku kliničku praksu otežana.

Korištenjem metoda CES, WES-a i WGS-a mogu se otkriti patogene ili vjerojatno patogene vari-

jante i u genima koji nisu izravno povezani s uputnom dijagnozom. Te varijante mogu ukazivati na određene rizike za kardiovaskularne, tumorske, metaboličke i druge bolesti. Takvi nalazi nazivaju se sekundarnim nalazima i sukladno smjernicama ACMG-a, priopćavaju se pacijentu (31).

Uzimajući u obzir prednosti i ograničenja pojedinih dijagnostičkih metoda, kao i njihov očekivani dijagnostički doprinos, te slijedeći preporuke iz literature temeljene na meta-analizi većeg broja studija, WES trio analiza trenutačno se smatra testom prvog izbora u dijagnostici neurorazvojnih poremećaja (32).

U svakodnevnom kliničkom radu, prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze, važno je razmotriti i poremećaje koji ne mogu biti otkriveni WES-om i WGS-om. To uključuje poremećaje metilacije, uniparentne disomije, kompleksne kromosomske aberacije i mitohondrijske poremećaje (ako analizom WES-a nije obuhvaćena i mitohondrijska DNA) (21). Stoga je temeljito poznavanje kliničke slike i dodatna primjena ostalih metoda dijagnostike *condicio sine qua non* u svakodnevnom kliničkom radu.

U budućnosti se očekuje značajan napredak u razvoju WGS metode kroz optimizaciju protokola za analizu dobivenih podataka, bolje razumijevanje intronskih i regulatornih varijanti uz pomoć umjetne inteligencije, te razvoj tehnologije *long-read* sekvenciranja koja omogućuje bolju detekciju strukturalnih varijanti (insercije, delecije, inverzije, translokacije), analizu složenih i ponavljajućih regija. Također, očekuje se smanjenje troškova ove pretrage, što bi omogućilo njezinu širu primjenu. Svakako, neophodna su daljnja istraživanja na većim skupinama pacijenata kako bi se ustanovila stvarna dijagnostička prednost WGS-a u odnosu na WES.

Paralelno s razvojem genomske dijagnostike, razvijaju se i dodatne analitičke metode koje mogu pomoći u interpretaciji inkonzistentnih nalaza genomskih testova, poput analize metilacijskih obrazaca i RNA sekvenciranja (33 - 35).

Analiza metilacijskih obrazaca (engl. *DNA methylation profiling*) je metoda koja ispituje obrasce metilacije DNA, što predstavlja važan epigenetički mehanizam regulacije genske ekspresije. Metilacija DNA uključuje dodatak metilne skupine na

citozinske baze unutar CpG dinukleotida, što može utjecati na aktivaciju ili represiju gena.

U kontekstu neurorazvojnih poremećaja, određene patogene varijante u genima mogu uzrokovati specifične promjene u obrascima metilacije, poznate kao *episignatures*. Takvi obrasci su karakteristični za različite genetske sindrome, poput sindroma fragilnog X-a ili poremećaja genomskog utiskivanja (engl. *imprinting*).

Primjenom analize metilacijskih obrazaca, moguće je identificirati te specifične promjene koje ukazuju na prisutnost određenih poremećaja (33). Ova metoda posebno je korisna u interpretaciji varijanti nepoznatog značenja jer može potvrditi ili isključiti njihovu patogenost (npr. *episign* kod pacijenta s VUS-om u genu za Kleefstra sindrom).

RNA sekvenciranje (RNA-seq, engl. *RNA sequencing*) je napredna molekularna metoda koja omogućuje detaljnu analizu ekspresije gena mjerenjem količine RNA transkripata u stanici (34). Za razliku od DNA sekvenciranja, koje pruža informacije o nasljednim varijantama, RNA sekvenciranje pruža uvid u funkcionalnu aktivnost gena, tj. koji se geni aktivno prepisuju u RNA i u kojoj mjeri.

Na području neurorazvojnih poremećaja ima ulogu u otkrivanju promjena u genskoj ekspresiji (promjene u regulaciji gena mogu dovesti do simptoma), identifikaciji aberantnog prekrivanja (engl. *splicing*), pomoć u procjeni patogenosti varijanti nejasnog kliničkog značaja (može reklasificirati i do 30 % varijanti nepoznatog značenja prema nekim studijama), a također omogućuje razlikovanje ekspresije između alela (što može pomoći u otkrivanju poremećaja imprintinga ili uniparentalne disomije).

Iako NGS tehnologije daju značajan dijagnostički doprinos, detekcija strukturalnih varijanti poput inverzija, translokacija, manjih delecija eksona i balansiranih rearanžmana ovim metodama najčešće nije moguća.

Još jedna metoda koja bi mogla premostiti ove nedostatke u kliničkoj praksi je Optičko genomsko mapiranje (OGM, engl. *Optical Genome Mapping*). Ova inovativna tehnologija omogućuje detaljno ispitivanje strukturalnih varijacija u genomu s visokom rezolucijom s pomoću dugačkih molekula DNA koje se označavaju fluorescentnim bojama i vizualiziraju naprednim mikroskopskim tehnika-

ma. OGM omogućuje detekciju velikih i složenih strukturalnih varijanti koje su često nevidljive standardnim metodama poput NGS-a, a omogućuje i analizu genomske složenosti i ponavljajućih regija koje su tehnički zahtjevne za sekvenciranje. Prema nekim procjenama može povećati dijagnostički doprinos u neurorazvojnim poremećajima i do 10 % (35).

Zaključno, svaka od opisanih metoda ima svoje mjesto u dijagnostici neurorazvojnih poremećaja. Preduvjet njihove primjene je temeljita klinička obrada i fenotipizacija kao i poznavanje dosega pojedinih metoda, važnost reanalize ranijih podataka te primjene komplementarnih metoda u slučaju negativne dijagnoze. S obzirom na heterogenost i multifaktorsku prirodu neurorazvojnih poremećaja u budućnosti se očekuju i testovi koji integriraju više metoda analize te testovi koji će sintezom genomske podataka omogućiti i poligenetsku procjenu rizika za neurorazvojne poremećaje, čime će se dodatno unaprijediti dijagnostika i personalizirani pristup bolesniku.

Kratice:

DSM-V	- Dijagnostički i statistički priručnik za duševne poremećaje V izdanje
ADHD	- attention deficit hyperactivity disorder
CNV	- copy number variant
NGS	- next generation sequencing
PCR	- polymerase chain reaction
FISH	- fluorescent in situ hybridization
MLPA	- multiplex ligation-dependent probe amplification
CMA	- chromosomal microarray analysis
aCGH	- array comparative genomic hybridization
ACMG/AMP	- American College Of Medical Genetics And Genomics/ Association For Molecular Pathology
SNV	- single nucleotide variant
VUS	- variants of unknown significance
CES	- clinical exome sequencing
HPO	- human phenotype ontology
WES	- whole exome sequencing
WGS	- whole genome sequencing
RNA-seq	- RNA sequencing
OGM	- optical genome mapping

LITERATURA

- Parenti I, Rabaneda LG, Schoen H, Novarino G. Neurodevelopmental Disorders: From Genetics to Functional Pathways. *Trends Neurosci.* 2020;43(8):608-21. doi: 10.1016/j.tins.2020.05.005
- Cainelli E, Bisiacchi P. Neurodevelopmental Disorders: Past, Present, and Future. *Children.* 2023;10(1):31. doi: 10.3390/children10010031
- Pietropaolo S, Crusio WE, Feldon J. Gene-Environment Interactions in Neurodevelopmental Disorders. *Neural Plast.* 2017;2017:9272804. doi:10.1155/2017/9272804
- Gholamalizadeh H, Amiri-Shahri M, Rasouli F, Ansari A, Baradaran Rahimi V, Reza Askari V. DNA Methylation in Autism Spectrum Disorders: Biomarker or Pharmacological Target? *Brain Sci.* 2024;14(8):737. doi:10.3390/brainsci14080737
- Khodoruth MAS, Khodoruth WNC, Uroos M, Al-Abdulla M, Khan YS, Mohammad F. Diagnostic and mechanistic roles of MicroRNAs in neurodevelopmental & neurodegenerative disorders. *Neurobiol Dis.* 2024;202:106717. doi:10.1016/j.nbd.2023.106717
- Schaefer GB, Mendelsohn NJ; Professional Practice and Guidelines Committee. Clinical genetics evaluation in identifying the etiology of autism spectrum disorders. *Genet Med.* 2008;10(4):301-5. doi:10.1097/GIM.0b013e31816b5b7e
- Taylor SE, Taylor RD, Price J, Andreae LC. Single-molecule fluorescence in-situ hybridization reveals that human SHANK3 mRNA expression varies during development and in autism-associated SHANK3 heterozygosity. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):206. doi:10.1186/s13287-018-0965-x
- Medina A, Piñeros L, Arteaga C, Velasco H, Izquierdo A, Giraldo A, Espinosa E. Multiplex ligation-dependent probe amplification to subtelomeric rearrangements in idiopathic intellectual disability in Colombia. *Pediatr Neurol.* 2014;50(3):250-4. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2013.10.020
- Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet.* 2010;86(5):749-64. doi:10.1016/j.ajhg.2010.04.006
- Bowling KM, Thompson ML, Amaral MD, et al. Genomic diagnosis for children with intellectual disability and/or developmental delay. *Genome Med.* 2017;9(1):43. doi: 10.1186/s13073-017-0469-5
- Martin CL, Ledbetter DH. Chromosomal Microarray Testing for Children With Unexplained Neurodevelopmental Disorders. *JAMA.* 2017;317(24):2545-6. doi:10.1001/jama.2017.6462
- Battaglia A, Doccini V, Bernardini L, et al. Confirmation of chromosomal microarray as a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental delay, intellectual disability, autism spectrum disorders and dysmorphic features. *Eur J Paediatr Neurol.* 2013;17(6):589-99. doi: 10.1016/j.ejpn.2013.06.004
- Maia N, Nabais Sá MJ, Melo-Pires M, de Brouwer APM, Jorge P. Intellectual disability genomics: current state, pitfalls and future challenges. *BMC Genomics.* 2021; 20; 22(1):909. doi:10.1186/s12864-021-08227-4.
- Buxbaum JD, Daly MJ, Devlin B, Lehner T, Roeder K, State MW; Autism Sequencing Consortium. The autism sequencing consortium: large-scale, high-throughput sequencing in autism spectrum disorders. *Neuron.* 2012; 76(6):1052-6. doi:10.1016/j.neuron.2012.12.018
- Ní Ghráiligh F, Gallagher L, Lopez LM. Autism spectrum disorder genomics: The progress and potential of genomic technologies. *Genomics.* 2020;112(6):5136-42. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.07.017
- Richards S, Aziz N, Bale S, et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-24. doi:10.1038/gim.2015.30
- Mellone S, Puricelli C, Vurchio D, et al. The Usefulness of a Targeted Next Generation Sequencing Gene Panel in Providing Molecular Diagnosis to Patients With a Broad Spectrum of Neurodevelopmental Disorders. *Front Genet.* 2022;13:875182. doi:10.3389/fgene.2022.875182
- Castellotti B, Ragona F, Freri E, et al. Next-generation sequencing in pediatric-onset epilepsies: Analysis with target panels and personalized therapeutic approach. *Epilepsia Open.* 2024;9(5):1922-30. doi:10.1002/epi4.12645
- Kim SH, Kim B, Lee JS, et al. Proband-Only Clinical Exome Sequencing for Neurodevelopmental Disabilities. *Pediatr Neurol.* 2019;99:47-54. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2019.03.003
- Baldrige D, Heeley J, Vineyard M, et al. The Exome Clinic and the role of medical genetics expertise in the interpretation of exome sequencing results. *Genet Med.* 2017;19(9):1040-8. doi:10.1038/gim.2017.50
- Harris HK, Sideridis GD, Barbaresi WJ, Harstad E. Pathogenic Yield of Genetic Testing in Autism Spectrum Disorder. *Pediatrics.* 2020;146(4):e20193211. doi: 10.1542/peds.2019-3211
- Ballesta-Martínez MJ, Pérez-Fernández V, López-González V, et al. Validation of clinical exome sequencing in the diagnostic procedure of patients with intellectual disability in clinical practice. *Orphanet J Rare Dis.* 2023;18(1):201. doi:10.1186/s13023-023-02391-0
- Jo YH, Choi SH, Yoo HW, et al. Clinical use of whole exome sequencing in children with developmental delay/intellectual disability. *Pediatr Neonatol.* 2024;65(5):445-50. doi: 10.1016/j.pedneo.2023.09.003

24. Charouf D, Miller D, Haddad L, White FA, Boustany RM, Obeid M. High Diagnostic Yield and Clinical Utility of Next-Generation Sequencing in Children with Epilepsy and Neurodevelopmental Delays: A Retrospective Study. *Int J Mol Sci.* 2024;25(17):9645. doi:10.3390/ijms25179645
25. Wang W, Corominas R, Lin GN. De novo Mutations From Whole Exome Sequencing in Neurodevelopmental and Psychiatric Disorders: From Discovery to Application. *FrontGenet.* 2019;10:258. doi:10.3389/fgene.2019.00258
26. van Slobbe M, van Haeringen A, Vissers LELM, et al. Reanalysis of whole-exome sequencing (WES) data of children with neurodevelopmental disorders in a standard patient care context. *Eur J Pediatr.* 2024;183(1):345-55. doi:10.1007/s00431-023-05044-5
27. Sánchez Suárez A, Martínez Menéndez B, Escolar Escamilla E, et al. Whole Exome Sequencing and Panel-Based Analysis in 176 Spanish Children with Neurodevelopmental Disorders: Focus on Autism Spectrum Disorder and/or Intellectual Disability/Global Developmental Delay. *Genes (Basel).* 2024;15(10):1310. doi:10.3390/genes15101310
28. Malinowski J, Miller DT, Demmer L, et al. ACMG Professional Practice and Guidelines Committee. Systematic evidence-based review: outcomes from exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability. *Genet Med.* 2020;22(6):986-1004. doi:10.1038/s41436-019-0751-4
29. Manickam K, McClain MR, Demmer LA, et al. ACMG Board of Directors. Exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability: an evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2021;23(11):2029-37. doi:10.1038/s41436-021-01156-6
30. van der Sanden BPGH, Schobers G, Corominas Galbany J, et al. The performance of genome sequencing as a first-tier test for neurodevelopmental disorders. *Eur J Hum Genet.* 2023;31(1):81-8. doi:10.1038/s41431-022-01085-7
31. Miller DT, Lee K, Abul-Husn NS, et al. ACMG Secondary Findings Working Group. ACMG SF v3.2 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2023;25(8):100866. doi:10.1016/j.gim.2023.100866
32. Srivastava S, Love-Nichols JA, Dies KA, et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genet Med.* 2019;21(11):2413-21. doi:10.1038/s41436-019-0488-3
33. Kerkhof J, Rastin C, Levy MA, et al. Diagnostic utility and reporting recommendations for clinical DNA methylation epigenotype testing in genetically undiagnosed rare diseases. *Genet Med.* 2024;26(5):101075. doi:10.1038/s41436-023-02072-5
34. Dekker J, Schot R, Bongaerts M, et al. Web-accessible application for identifying pathogenic transcripts with RNA-seq: Increased sensitivity in diagnosis of neurodevelopmental disorders. *Am J Hum Genet.* 2023 2;110(2):251-72. doi:10.1016/j.ajhg.2022.12.016
35. Schrauwen I, Rajendran Y, Acharya A, et al. Optical genome mapping unveils hidden structural variants in neurodevelopmental disorders. *Sci Rep.* 2024;14(1):11239. doi:10.1038/s41598-024-39090-z

Adresa za dopisivanje:

Doc. dr. sc. **Ljubica Odak**, dr. med.
 Klinika za dječje bolesti Zagreb
 Klaićeva 16, 10000 Zagreb
 e-mail: ljubica.odak7@gmail.com

SUMMARY

Genomic diagnostics of neurodevelopmental disorders: current opportunities and future potential

Ljubica Odak, Katarina Vulin, Leona Morožin Pohovski, Ivona Sansović, Ana-Marija Meašić, Adriana Bobinec, Morana Mikloš

Neurodevelopmental disorders comprise a heterogeneous group of developmental disorders associated with cognitive, motor, social, and behavioral abnormalities. In addition to the above, affected patients usually have additional developmental abnormalities: dysmorphic features, congenital anomalies, epilepsy as well as various functional abnormalities. The etiological basis of neurodevelopmental disorders is complex and includes genomic alterations, epigenetic mechanisms, environmental factors, and gene-environment interactions. Knowledge of genomic diagnosis and disease mechanisms is crucial for adequate therapeutic procedures, prevention of potential associated healthcare issues, and identification of family relatives at risk. Until about 15 years ago, classic genetic and molecular genetic diagnostic methods could provide genomic basis in 10–15 % of these patients. In the last years, the introduction of next-generation sequencing technology has provided simultaneous analysis of a large set of genes and the whole genome. It significantly improved the diagnosis of neurodevelopmental disorders. Next-generation sequencing technology connects the methods of molecular biology, information technology, and clinical genetics. Despite the impressive progress in this field, the genomic basis of neurodevelopmental disorders is still not elucidated in many patients. At the same time, other technological platforms dedicated to genome analysis are evolving, such as methylation pattern analysis (episignature), more advanced sequencing technologies (long read), RNA sequencing, and analysis of structural variants using optical genome mapping technology. The development of these methods will certainly improve genome diagnostics of neurodevelopmental disorders and create the basis for the creation of therapeutic procedures in the future.

Key words: NEURODEVELOPMENTAL DISORDERS; GENOME; DIAGNOSTIC TECHNIQUES AND PROCEDURES

Genetski čimbenici i cerebralna paraliza

Romana Gjergja Juraški^{1, 2, 3}

Svrha: Povijesni opisi cerebralne paralize (CP) sadržavaju prikaze slučajeva koji pokazuju ozljedu mozga uzrokovanu perinatalnim čimbenicima, s evidentnom povezanosti okoline, razvoja mozga i CP. Nedavna istraživanja pokazuju da 11 % do 40 % osoba s kliničkom dijagnozom CP ima monogenetski uzrok. **Postupci:** Ovaj pregled razmatra genetski napredak u dijagnostičkoj skrbi za CP i implikacije genetskog liječenja CP.

Glavna otkrića: Do sada identificirani geni u CP imaju izravan učinak na razvoj mozga ili ciljaju na druga tkiva koja su ranjiva. Ti neizravni mehanizmi mogu dovesti do većeg rizika od perinatalnog stresa ili ozbiljnog oštećenja mozga, što zatim dovodi do kliničkog fenotipa CP. Nalazi podupiru široko rasprostranjene moguće etiologije koje dovode do CP. Kako se sve više istraživanja usredotočuje na genetske uzroke CP, popis do sada identificiranih gena povezanih s nastankom CP početna je točka u razvoju panela gena specifičnih za CP. Dostupnost sekvenciranja egzoma i financijska sredstva za genetsko testiranje još uvijek su ograničeni, a genetski markeri mogu identificirati osobe s CP kod kojih bi se moglo koristiti genetsko testiranje. Postoje čimbenici koji ukazuju na povećanu vjerojatnost genetske dijagnoze CP, naglašavajući potrebu za sveobuhvatnim skupom referentnih podataka o genotipu i fenotipu kako bi se pomoglo tumačenje varijanti u kohortama s CP.

Zaključak: Dijagnoza CP ostaje klinička, ali mogućnost genetskog testiranja podržava omogućavanje personalizirane medicine populaciji s CP, pružajući korisne podatke za ciljano liječenje pacijenata, i genetskog savjetovanja za njihove obitelji.

Ključne riječi: GENETIKA; CEREBRALNA PARALIZA; EGZOM; GENOM; ANALIZA SEKVENCI

UVOD

Genomsko testiranje pruža mogućnost adekvatnijeg praćenja i intervencija prema pojedincu na osnovi utjecaja specifičnog genetskog nalaza. Genomsko testiranje rutinski se koristi u pedijatrijskoj neurologiji kod epilepsija s ranim početkom ili epileptičkih encefalopatija gdje temeljni monogeni uzrok može pomoći u donošenju odluke o anti-

epileptičkoj terapiji koja bi bila specifična za određeni genetski poremećaj.

Unatoč sve većem broju dokaza o genetskom doprinosu u nastanku cerebralne paralize (CP), genomsko testiranje nije rutinski usvojeno u djece s CP. Postoji potreba za procjenom potencijalne uloge genetskog testiranja u djece s radnom dijagnozom CP, kako u smislu dijagnostičkih izazova

¹ Dječja bolnica Srebrnjak, Klinika za pedijatriju, Srebrnjak 100, 10000 Zagreb

² Medicinski fakultet u Osijeku, Sveučilište Josip Juraj Strossmayer, J. Huttlera 4, 31000 Osijek

³ Fakultet zdravstvenih studija, Sveučilište u Rijeci, Viktora cara Emina 5, 51000 Rijeka

i personalizirane terapije, tako i u smislu koristi za cjeloživotnu kliničku skrb.

Povijesni opis neurorazvojnih simptoma u CP pripisuje se *Williamu Johnu Littleu*; taj rad doveo je do spoznaje kako nepovoljni perinatalni i neonatalni uvjeti mogu rezultirati kašnjenjem u neurorazvoju i motoričkim oštećenjem (1). Početkom 21. stoljeća autori su definirali CP kao skupinu trajnih poremećaja razvoja kretanja i držanja tijela koji uzrokuju ograničenje aktivnosti; pripisuje se neprogresivnim poremećajima u razvoju mozga fetusa ili dojenčadi (2). Motorički poremećaji CP često su popraćeni poremećajima osjeta, percepcije, kognicije, komunikacije i ponašanja; epilepsijom i sekundarnim mišićno-koštanim poremećajima (2). Definicije CP naglašavale su heterogenost i sve više pokušavale uputiti na uzročne mehanizme, korištenjem pojmova u rasponu od lezije ili abnormalnosti do poremećaja ili smetnji (3).

Poznato je da ozljeda mozga tijekom intrauterinog razvoja, ili u novorođenčeta ili dojenčeta može dovesti do CP, a danas smo svjesni i antenatalnih čimbenika kao što su kromosomske aberacije, kongenitalne infekcije i poremećaji koagulacije fetusa, kao stanja koja dovode do CP. Zbog napretka u perinatalnoj skrbi, stope CP u zemljama s visokim dohotkom su snižene (4, 5), ali prevalencija ostaje i dalje visoka u zemljama s niskim i srednjim dohotkom (6). Ozljeda bijele tvari najčešća je vrsta lezije mozga u nedonoščadi i može biti prisutna u do 50 % novorođenčadi s vrlo niskom porođajnom težinom (7). Uslijed poboljšanja neonatalne zdravstvene skrbi, cistična ozljeda bijele tvari, koja se naziva i cistična periventrikularna leukomalacija, postala je rijetka bolest, pa u vrlo nezrele djece koja prežive danas pretežito prevladava difuzni oblik ozljede bijele tvari (8, 9). Neonatalni moždani udar važno je stanje koje rezultira s CP, uz procijenjenu prevalenciju 1:1100 terminski rođene djece (10). Hipoksično-ishemijska encefalopatija u terminske djece oštećuje korteks, duboku sivu tvar i puteve bijele tvari (11). Ozljede mozga u razvoju nakon neonatalnog razdoblja također mogu dovesti do dijagnoze CP (12).

VAŽNOST TOČNE DEFINICIJE CEREBRALNE PARALIZE

Postavljanje dijagnoze cerebralne paralize može imati značajnu ulogu u društvenim, administrativ-

nim, znanstvenim i kliničkim kontekstima (13). Detaljno uzimanje osobne i obiteljske anamneze, detaljni pregledi i odgovarajuće pretrage pomažu u izbjegavanju pogrešne dijagnoze u stanjima koja se mogu smatrati oponašateljima CP (npr. neuromuskularni i neurodegenerativni poremećaji, neurometabolička stanja ili leukoencefalopatije) (14). Korištenje tzv. 122 zajednička elementa podataka koje je razvio Internacionalni genomski konzorcij za cerebralnu paralizu (ICPGS, engl. *International Cerebral Palsy Genomics Consortium*) pomaže poboljšati opise slučajeva, jer su ovi podatci dizajnirani za korištenje u genomskim znanstvenim istraživanjima u cerebralnoj paralizi u cilju promicanja harmonizacije podataka, i u svrhu dijeljenja podataka (15). Nadalje, studije koje istražuju genetske čimbenike povezane s CP trebale bi usvojiti standardizirani pristup utvrđivanju slučajeva.

Smjernice Skupine za praćenje cerebralne paralize u Europi (SCPE, engl. *Surveillance of Cerebral Palsy in Europe*) uključuju čekanje dok dijete ne napuni najmanje četiri godine prije službenog uključivanja u registar podataka kao CP, kako bi se smanjila vjerojatnost nenamjernog uključivanja progresivnih poremećaja; dijagnostičko stablo odlučivanja o nadzoru cerebralne paralize u Europi također isključuje djecu s generaliziranom hipotonijom i priznaje izazove razlikovanja ataksične CP i progresivnih cerebelarnih poremećaja (16). Ključni pristup treba biti ispravna klinička procjena i klasifikacija kao CP te praćenje znakova progresije. Ako se pronađe genetska etiologija, dijagnostička oznaka CP treba ostati ako je kompatibilna s kliničkom prezentacijom (13).

NAPREDAK GENETIKE I GENOMIKE U CEREBRALNOJ PARALIZI

Bolje razumijevanje osnovne patofiziologije pomaže u daljnjem liječenju CP. Razvojna biologija oligodendrocitne loze pružila je uvid u prirodu ozljeda bijele tvari koje rezultiraju hipomijelinacijom. Otkriće *OLIG1* i *OLIG2* gena omogućilo je biomarkere za najranije faze razvoja oligodendrocitne loze i blokadu diferencijacije uzrokovanu ozljedom (17). Blok diferencijacije oligodendrocitne loze u fazi prije mijelinizacije i u tijeku mijelinizacije karakterističan je za neonatalnu ozljedu bijele tvari (18).

Znanstvenici su također identificirali Wnt put kao inhibitor prijelaza iz premijelinizirajuće u mijelinizirajuću fazu razvoja oligodendrocita, a ljudske patološke studije pokazale su aktivaciju Wnt puta u novorođenčkim hipoksičko-ishemijskim encefalopatijama i ozljedama bijele tvari u prematurusa (19 - 21). Wnt put služi kao primjer za inhibitore diferencijacije loze oligodendrocita koji mogu pomoći u objašnjenju nastanka hipomijelinizacije u CP, a mutacije *CTNNB1* gena koji kodira β -katenin, komponentu Wnt puta, među najčešćim su pronađenima u bolesnika s CP (22).

Varijante β -katenina, kodirane *CTNNB1* genom, česte su u izvješćima o djeci s kliničkom dijagnozom CP za koje se predviđa da će aktivirati ili inhibirati Wnt put, što će zauzvrat vjerojatno utjecati na razvoj neurona, mijelinizirajućih oligodendrocita i/ili vaskulature mozga (23).

U početku su podaci o genetskim sekvencama kodirajućih regija ljudskog genoma iz studija sekvenciranja egzoma pokazali da 11 % do 40 % ljudi s dijagnozom CP ima monogenu patološku varijantu DNA (24 - 26). Standardi zdravstvene zaštite još uvijek ne sadrže prijedlog genetskog testiranja za sve osobe s CP, ali cjeloegzomsko sekvenciranje (WES, engl. *Whole exome sequencing*) danas načini oslonac za genomsko testiranje u okruženjima s visokim prihodima, gdje kliničari određuju podobnost za genomsko testiranje na temelju fenotipa pacijenta (27).

Povezanost delecija/duplikacija gena i CP je nerijetko kompleksna i uz različitost kliničke slike, pa su detaljna izvješća o nalazima varijacija broja kopija (CNV, engl. *Copy number variation*) nalazima u CP važna u procjeni ove povezanosti. Lewis i suradnici su u svojem preglednom prikazu genetskih studija nabrojali najčešće vjerojatno patogene varijacije broja kopija opisane u osoba s CP kao što su: dup 2p25.3, del 9p24.3 i del 22q11.21 i Xp monosomije (28 - 34).

Sustavnim pregledom i meta-analizom sekvenciranja egzoma među 15 kohortnih studija pronađen je dijagnostički učinak od 35 % (95 % interval pouzdanosti 27 - 45 %) u kriptogenoj CP u usporedbi sa 7 % (95 % interval pouzdanosti 4 - 12 %) u kohortama s poznatim čimbenicima rizika za CP (25). Varijante u 23 gena identificirane su u kohortama, a gen *CTNNB1* bio je najčešće identificiran. Većina ovih gena povezana je s dodatnim fenotipovima

koji bi trebali povećati sumnju za genetsku dijagnozu. Karakteristične značajke u sindromu povezanom s *CTNNB1* genom uključuju eksudativnu retinopatiju, postnatalnu mikrocefaliju, smanjen rast i kongenitalnu bolest srca (22, 25, 35). Meta-analizom su otkrivena i druga stanja s razlikovnim značajkama, kao što su progresivna slabost donjih udova i spastičnost (*SPAST* gen) ili težak fenotip sličan Rettovom sindromu s većinom osoba koje su neverbalne i nepokretne (*FOXG1* gen) (23, 36). Drugi primjeri uključuju kortikalno oštećenje vida, epileptičke napadaje, perifernu neuropatiju, ataksiju i distoniju povezanu s *KIF1A* genom (*NESCAV* sindrom); i X-vezane specifične dismorfične značajke s izraženim kašnjenjem govora u *DDX3X* genu (37, 38). Značajke *DYRK1A* gena uključuju dismorfizam, intrauterino ograničenje rasta, mikrocefaliju i urogenitalne i oftalmološke abnormalnosti; gen *TCF4* uzrokuje Pitt-Hopkinsov sindrom povezan s prepoznatljivim dismorfičnim značajkama, značajnim intelektualnim nedostatkom, gastrointestinalnim abnormalnostima i epizodičnom hiperventilacijom (25, 35).

Janzing i suradnici sustavno su pretražili PubMed bazu podataka kako bi identificirali gene povezane s CP i identificirano je ukupno 55 gena koji su zadovoljili kriterije za uključivanje (dijagnostički kriteriji za CP, dob prezentacije manje od dvije godine i genetski uzrok prijavljen u dvije ili više osoba). Mutacije koje su pronađene su u pojedinačnim nuklearnim genima, zatim veće varijacije broja kopija ili mutacije u mitohondrijskoj DNA. Geni u ovom istraživanju koji su najčešće povezani s CP su: *PLP1*, *ARG1*, *CTNNB1*, *ATL1* i *SLC6A3* gen. Najčešće prijavljeni geni bili su uglavnom povezani s hipomijelinizirajućim leukodistrofijama kao što je Pelizaeus-Merzbacherova bolest (*PLP1*) i metaboličkim poremećajima, npr. argininemija (*ARG1*). Osim toga, identificirani su geni povezani s trombofilijama (npr. *F5*, *PROC*), nasljednim spastičnim paraplegijama (*ATL1*, *SPAST*) i poremećajima sinteze neurotransmitera kao što je nedostatak sepiapterin reduktaze (*SPR*). Genetski defekti opisani u samo jednom slučaju CP označeni su kao kandidatni geni za CP, a navedeno je 79 gena (38). Buduće publikacije mogle bi otkriti više pojedinačaca s tim potencijalnim genima za CP i time povećati njihovu kliničku važnost.

Identificirani geni u CP imaju heterogene molekularne putove: imaju izravan učinak na razvoj

mozga ili ciljaju na druga tkiva koja su zbog toga ranjivija. Ovi neizravni mehanizmi mogu dovesti do većeg rizika od perinatalnog stresa ili ozbiljnog oštećenja mozga kao što je moždani infarkt, što onda dovede do kliničkog fenotipa CP. Svi ovi nalazi podupiru široko rasprostranjene moguće etiologije koje dovode do CP (38). Identifikacija gena za metaboličke poremećaje u osoba s CP može biti važna, jer su to potencijalno izlječivi poremećaji (39).

Basu i suradnici su 2024. godine proveli PubMed sustavnu pretragu podataka o fenotipu na razini pacijenta služeći se pojmovima ontologije ljudskog fenotipa (HPO, engl. *Human Phenotype Ontology*) za 199 osoba s CP-om kojima je postavljena dijagnoza monogene bolesti. HPO je najopsežniji resurs dostupan za fenotipizaciju i standard je u području rijetkih bolesti, za kliničke opise, izračunljive definicije bolesti i pomoć u genomskoj dijagnostici (40). Basu i suradnici usporedili su ovaj skup podataka s dostupnim referentnim HPO komentarima po genu i HPO terminima kao što su spastična diplegija, spastična tetraplegija i spastična hemipareza koji su se često pojavljivali. Pojmovi kao što su atetoidna cerebralna paraliza, distonija, progresivno neurološko pogoršanje, globalno kašnjenje u razvoju i intelektualna invalidnost također su značajno obogaćeni u skupu podataka na razini bolesnika. Nije iznenađujuće da osobe s dijagnozom monogene bolesti i CP imaju veću učestalost termina HPO povezanih s kliničkim značajkama CP od skupine ljudi s istom dijagnozom monogene bolesti (41).

Pojam tzv. progresivnog neurološkog pogoršanja obogaćen je skupinom podataka na razini bolesnika. CP je neprogresivno stanje, tako da ovaj nalaz ukazuje da su pacijenti s pogrešnom dijagnozom CP uključivani u objavljene podatke. Ovo naglašava potrebu za točnim referentnim skupom genotip-fenotip koji bi pomogao u tumačenju varijanti u kohortama bolesnika s CP (42).

Nalazi mozga na magnetskoj rezonanciji (MR) mogu pokazati vjerojatnost genetskog uzroka kod bolesnika s fenotipom CP (43). Poremećaji hipomijelinizacije i neki defekti migracije neurona vrlo su indikativni za genetske uzroke. Normalan MRI mozga može ukazati na temeljni genetski/metabolički uzrok u djeteta bez povijesti prijevremenog rođenja.

Nalazi u objavljenim izvješćima sugeriraju određene napomene odnosno “crvene zastave” za WGS testiranje u CP (43). Janzing i suradnici napravili su sustavnu pretragu kako bi identificirali gene povezane s CP i usporedili kliničke karakteristike pacijenata te skupine s osobitostima pacijenata iz velikih skupina s CP (38). Diskinezija i odsutnost spasticiteta bili su snažno povezani s genetskim uzrocima. Intelektualni invaliditet, nepostojanje prijevremenog poroda u anamnezi i bilateralni simptomi bili su umjereno povezani s genetskim uzrocima (38). Svakako je ključno usredotočiti se na točnu fenotipizaciju, pažljivu kliničku procjenu i ponovnu procjenu kada nove informacije o fenotipu postanu dostupne. Izračuni genetskog rizika koji se temelje na fenotipu mogu biti područje nekih budućih istraživanja, s obzirom na to da su geni povezani s rizikom od CP puno izazovniji u smislu objašnjenja, genetskog savjetovanja i implikacija za liječenje nego monogeni poremećaji (40).

EPIGENOMIKA I TRANSKRIPTOMIKA I CEREBRALNA PARALIZA

Epigenetički procesi kontroliraju ekspresiju ljudskog genoma. Epigenomika se bavi proučavanjem svih epigenetskih modifikacija koje utječu na genom. Riječ je o nasljednim, ali i reverzibilnim promjenama u funkciji gena koje moduliraju ekspresiju genotipa u određeni fenotip.

Epigenomske analize otkrile su promjene u aksonskom navođenju tj. načinu kojim neuroni slanjem aksona pronalaze ispravan put, zatim u citoskeletu aktina i staničnom signaliziranju, u odnosu na genomske nalaze. Analiza PEA (engl. *Pathway Enrichment Analysis*) identificira biološke puteve koji su obogaćeni u nekoj listi gena više od očekivanog, pa tako u monozigotnih blizanaca koji su diskordantni za CP pokazuje promjene u MAPK signaliziranju, signaliziranju povezanom s hipoksijom, upali, adheziji stanica, Ras signaliziranju i dr. (44). Kod nesrodnih pojedinaca s CP identificirane su razlike u metilaciji gena koji su uključeni u: aksonsko vođenje, aktinski citoskelet, TGF- β , Wnt, neuregulin i dr., a to podupire tvrdnju da su perinatalna hipoksična ishemija i upalni odgovori povezani s ishodom CP (45). Još uvijek je nejasno postoji li uzročna veza, budući da takve studije nisu

kontrolirale čimbenike rizika iz okoliša, koji bi sami mogli objasniti epigenetske promjene. Daljnje studije koje povezuju genomske i epigenomske nalaze su svakako potrebne.

Transkriptomika se bavi proučavanjem transkriptoma, kompleta svih RNA molekula. Transkriptom se razlikuje od egzoma u kojem su samo molekule RNA koje se nalaze u specifičnim staničnim skupinama, te obično uključuje količinu i identitet svake molekule RNA. Transkriptomaska analiza limfoblastoidnih staničnih linija izvedenih iz 182 bolesnika s CP s mješavinom okolišnih, genetskih i neodređenih etiologija otkrila je 387 značajno različito eksprimiranih gena (46). Unatoč različitim etiologijama i dobi u vrijeme prikupljanja, autori su pronašli preklapanje u disregulaciji MAPK signaliziranja što je u skladu s nalazima iz epigenetskih studija. Promjene u genima koji upravljaju staničnom signalizacijom (MAPK/PI3K/AKT) mogu dovesti do defekta neuronskog povezivanja i CP. Ova razlika u ekspresiji mogla bi biti primarne naravi, tj. povezana s uzrokom CP ili sekundarna, tj. posljedica kronične spastičnosti i kontraktura mišića. Serijske studije bolesnika analiziranih s pomoću više tehnika mogle bi biti korisne. Postojanje detaljno opisanih fenotipova pacijenata dodatno bi olakšalo tumačenje ovih složenih nalaza i pomoglo bi u razlikovanju puteva koji pokreću patofiziologiju, u odnosu na one koji su kompenzacijski mehanizmi.

PREPORUKE ZA GENETSKO TESTIRANJE U CEREBRALNOJ PARALIZI

Dijagnoza CP je klinička dijagnoza i mnogi kliničari možda neće uzeti u obzir mogući genetski uzrok CP. Unatoč tome, sustavni pregled i meta-analiza otkrili su da je dijagnostički učinak genetskog testiranja u CP od 31,1 % dovoljno visok da se preporuča sekvenciranje egzoma kao standardna skrb za dijagnostičku obradu osoba s CP (26).

Budući da se sve više istraživanja usredotočuje na genetske uzroke CP, popis do sada identificiranih gena u CP je tek početna točka u razvoju genskih panela specifičnih za CP. Dostupnost sekvenciranja egzoma i proračuni za genetsko testiranje još uvijek su ograničeni u mnogim zemljama, a genetski pokazatelji mogu identificirati osobe s CP kojima bi genetski test mogao koristiti. Janzing i su-

radnici definirali su snažne pokazatelje genetske CP kao što su: diskinezija, odsutnost spastičnosti, krvno srodstvo i pozitivna obiteljska anamneza; umjereni pokazatelji bili su intelektualna invalidnost, odsutnost prijevremenog poroda, odsutnost jednostranih simptoma; mogući pokazatelji bili su nepostojanje perinatalnih čimbenika rizika, oštećenje vida i mikrocefalija (38).

Na temelju istraživanja Srivastava i Poduri preporučili su sveobuhvatno genetsko testiranje za pacijente s CP nepoznatog uzroka ili one s poznatim uzrokom, ali koji imaju kliničke značajke koje upućuju na genetski poremećaj: više od jednog zahvaćenog člana obitelji, konsagvinitet roditelja, dismorfčne crte lica, kongenitalne anomalije, normalan MR mozga, spasticitet ili slabost koja napreduje, perinatalna anamneza koja ne može objasniti težinu spasticiteta i/ili intelektualni invaliditet, neobjašnjivi metabolički poremećaji (25). Sekvenciranje cijelog egzoma trebalo bi ponuditi kao test prve linije (25). Ako su rezultati cjeloegzomskog sekvenciranja negativni, za sada se preporučuje kromosomska analiza na mikropostroju (CMA, engl. *Chromosomal Microarray Analysis*) (25). Kako sekvencioniranje cijelog genoma postaje sve češće u kliničkoj praksi, tako ni CMA analiza neće biti prijeko potrebna.

IMPLIKACIJE GENETSKE DIJAGNOZE U CEREBRALNOJ PARALIZI

Pronalaženje genetskog uzroka ili doprinositelja CP ima medicinsko-pravne implikacije i može utjecati na odluku obitelji da nastavi ili ne nastavi s potraživanjem genetske dijagnoze. Svako genetsko testiranje također treba uključiti roditelje djeteta jer to poboljšava točnost dijagnoze i otkriva je li genetska varijanta naslijeđena ili se pojavila *de novo*. Otkrivanje *de novo* genetskog uzroka moglo bi olakšati osjećaj krivnje kod roditelja djeteta koje ima CP. Genetski nalazi mogu dovesti do individualizirane skrbi, za koju se očekuje da će promicati bolje rezultate (47 - 49).

Ako testiranje ne pruži genetsku dijagnozu, preporučuje se ponovna procjena pacijenata nakon dvije do tri godine kako bi se vidjelo ima li promjena u kliničkoj slici. Genetika može igrati važnu ulogu čak i kada postoje drugi identificirani čimbenici rizika za CP i ponekad može preusmjeriti

skrb i potencijalno dovesti do precizne terapije kada biološki učinci genetske varijante postanu poznati (25).

Zaključno, značajni su izazovi suvremene medicine u razmatranju uvođenja genomskog testiranja u CP i ne uključuju samo pojedinca s CP. Ovi izazovi uključuju mnogo širi kontekst i činjenice kao što su potreba za točnijom fenotipizacijom osoba s CP, razumijevanje koga treba testirati i tko će ga testirati, razlikovanje monogenih uzroka i čimbenika rizika za CP, postojanje prateće logistike i evaluacija troškova na svim razinama. Za sada je prerano davati preporuke za nacionalne smjernice, ali je važno omogućiti što bolje razumijevanja genetike CP i u skladu s time ponuditi prijedlog kada i kod koga razmotriti genetsko testiranje u CP. Postoji potreba za daljnjim istraživanjima kako bi se u skladu s medicinom temeljenom na dokazima razmotrila CP kao indikacija za WES ili WGS testiranje. Epigenomika i transkriptomika dodatno su ukazale na kompleksnost patofiziologije i uzročnih čimbenika i doprinositelja u osoba s cerebralnom paralizom.

Kratice:

- CNV – varijacija broja kopija (engl. *copy number variation*)
- CMA – kromosomski mikropostroj (engl. *chromosomal microarray analysis*)
- CP – cerebralna paraliza
- DNA – deoksiribonukleinska kiselina
- HPO – Ontologija ljudskog fenotipa (engl. *Human Phenotype Ontology*)
- ICPGS – Međunarodni konzorcij za genomiku cerebralne paralize (engl. *International Cerebral Palsy Genomics Consortium*)
- MR – magnetska rezonancija
- RNA – ribonukleinska kiselina
- SCPE – Praćenje cerebralne paralize u Europi (engl. *Surveillance of Cerebral Palsy in Europe*)
- WES – cjeloegzomsko sekvenciranje (engl. *Whole exome sequencing*)
- WGS – cjelogenomsko sekvenciranje (engl. *Whole genome sequencing*)

LITERATURA

1. Little W. On the influence of abnormal parturition, difficult labours, premature birth, and asphyxia neonatorum, on the mental and physical condition of the child, especially in relation to deformities. *Trans Obstet Soc Lond.* 1861;3:293-344.
2. Rosenbaum P, Paneth N, Leviton A, et al. A report: the definition and classification of cerebral palsy April 2006. *Dev Med Child Neurol Suppl.* 2007;109:8-14. doi: 10.1111/j.1469-8749.2007.tb12610.x
3. Dan B. A new description of cerebral palsy: Framing, wording, and perspective. *Dev Med Child Neurol.* 2024; 66:822-3. doi:10.1111/dmcn.15500
4. Arnaud C, Ehlinger V, Delobel-Ayoub M, et al. Trends in prevalence and severity of pre/perinatal cerebral palsy among children born preterm from 2004 to 2010: ASPE collaboration study. *Front Neurol.* 2021;12:624884. doi: 10.3389/fneur.2021.624884
5. Smithers-Sheedy H, Waight E, Goldsmith S, et al. Declining trends in birth prevalence and severity of singletons with cerebral palsy of prenatal or perinatal origin in Australia: A population-based observational study. *Dev Med Child Neurol.* 2022;64:1114-22. doi:10.1111/dmcn.15200
6. McIntyre S, Goldsmith S, Webb A, et al. Global prevalence of cerebral palsy: A systematic analysis. *Dev Med Child Neurol.* 2022;64(12):1494-1506. doi:10.1111/dmcn.15346
7. Agut T, Alarcon A, Cabañas F, Bartocci M, Martinez-Biarge M, Horsch S; eurUS.brain group. Preterm white matter injury: ultrasound diagnosis and classification. *Pediatr Res.* 2020;87(Suppl 1):37-49. doi:10.1038/s41390-020-0781-1
8. Hamrick SE, Miller SP, Leonard C, et al. Trends in severe brain injury and neurodevelopmental outcome in premature newborn infants: the role of cystic periventricular leukomalacia. *J Pediatr.* 2004;145(5):593-9. doi:10.1016/j.jpeds.2004.05.042
9. Back SA, Miller SP. Brain injury in premature neonates: A primary cerebral dysmaturation disorder? *Ann Neurol.* 2014;75(4):469-86. doi:10.1002/ana.24132
10. Dunbar M, Mineyko A, Hill M, Hodge J, Floer A, Kirton A. Population-based birth prevalence of disease-specific perinatal stroke. *Pediatrics.* 2020;146(5):e2020013201. doi:10.1542/peds.2020-013201
11. de Vries LS, Jongmans MJ. Long-term outcome after neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2010;95(3):F220-4. doi: 10.1136/ad.2008.148957.
12. Goldsmith S, McIntyre S, Scott H, et al. Congenital anomalies in children with post-neonatally acquired cerebral palsy: an international data linkage study. *Dev Med Child Neurol.* 2021;63(4):421-8. doi: 10.1111/dmcn.14750.
13. Werkhoven S, Anderson JH, Robeyns IAM. Who benefits from diagnostic labels for developmental disorders? *Dev Med Child Neurol.* 2022;64(8):944-9. doi: 10.1111/dmcn.15177.
14. Fahey MC, MacLennan AH, Kretzschmar D, Gecz J, Kruer MC. The genetic basis of cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol.* 2017;59(5):462-9. doi: 10.1111/dmcn.13363.
15. International Cerebral Palsy Genomics Consortium (ICPGC). ICPGC Common Data Elements (CDEs) for genomics studies of cerebral palsy [Internet]. Version 1.4,

- March 2022. Available from: https://icpgc.wpengine.com/wp-content/uploads/2022/04/ICPGC_CDEs_122-variables_03-2022.pdf. Accessed 2025 Jan 11.
16. Smithers-Sheedy H, Badawi N, Blair E, et al. What constitutes cerebral palsy in the twenty-first century? *Dev Med Child Neurol*. 2014;56(4):323–8. doi: 10.1111/dmcn.12262.
17. Lu QR, Yuk D, Alberta JA, et al. Sonic hedgehog-regulated oligodendrocyte lineage genes encoding bHLH proteins in the mammalian central nervous system. *Neuron*. 2000; 25(2):317–29. doi: 10.1016/s0896-6273(00)80896-7.
18. Billiards SS, Haynes RL, Folkerth RD, et al. Myelin abnormalities without oligodendrocyte loss in periventricular leukomalacia. *Brain Pathol*. 2008;18(2):153–63. doi: 10.1111/j.1750-3639.2007.00108.x.
19. Fancy SP, Baranzini SE, Zhao C, et al. Dysregulation of the Wnt pathway inhibits timely myelination and remyelination in the mammalian CNS. *Genes Dev*. 2009;23(13):1571–85. doi: 10.1101/gad.1806309.
20. Fancy SP, Harrington EP, Yuen TJ, et al. Axin2 as regulatory and therapeutic target in newborn brain injury and remyelination. *Nat Neurosci*. 2011;14(8):1009–16. doi: 10.1038/nn.2855.
21. Yuen TJ, Silbereis JC, Griveau A, et al. Oligodendrocyte-encoded HIF function couples postnatal myelination and white matter angiogenesis. *Cell*. 2014;158(2):383–96. doi: 10.1016/j.cell.2014.04.052.
22. Kayumi S, Pérez-Jurado LA, Palomares M, et al. Genomic and phenotypic characterization of 404 individuals with neurodevelopmental disorders caused by CTNNB1 variants. *Genet Med*. 2022;24(11):2351–66. doi: 10.1016/j.gim.2022.07.006.
23. Jin SC, Lewis SA, Bakhtiari S, et al. Mutations disrupting neurogenesis genes confer risk for cerebral palsy. *Nat Genet*. 2020;52(10):1046–56. doi: 10.1038/s41588-020-0695-1.
24. Chopra M, Gable DL, Love-Nichols J, et al. Mendelian etiologies identified with whole exome sequencing in cerebral palsy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2022;9(2):193–205. doi: 10.1002/acn3.51506.
25. Srivastava S, Lewis SA, Cohen JS, et al. Molecular diagnostic yield of exome sequencing and chromosomal microarray in cerebral palsy: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Neurol*. 2022;79(12):1287–95. doi: 10.1001/jamaneurol.2022.3223.
26. Gonzalez-Mantilla PJ, Hu Y, Myers SM, et al. Diagnostic yield of exome sequencing in cerebral palsy and implications for genetic testing guidelines: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Pediatr*. 2023;177(5):472–8. doi: 10.1001/jamapediatrics.2022.6025.
27. Smedley D, Jacobsen JO, Jäger M, et al. Next-generation diagnostics and disease-gene discovery with the Exomiser. *Nat Protoc*. 2015;10(12):2004–15. doi: 10.1038/nprot.2015.124.
28. Lewis SA, Shetty S, Wilson BA, et al. Insights from genetic studies of cerebral palsy. *Front Neurol*. 2021;11:625428. doi: 10.3389/fneur.2020.625428.
29. McMichael G, Bainbridge MN, Haan E, et al. Whole-exome sequencing points to considerable genetic heterogeneity of cerebral palsy. *Mol Psychiatry*. 2015;20(2):176–82. doi: 10.1038/mp.2014.189.
30. Oskoui M, Coutinho F, Dykeman J, Jetté N, Pringsheim T. An update on the prevalence of cerebral palsy: a systematic review and meta-analysis. *Dev Med Child Neurol*. 2013;55(6):509–19. doi: 10.1111/dmcn.12080.
31. Segel R, Ben-Pazi H, Zeligson S, et al. Copy number variations in cryptogenic cerebral palsy. *Neurology*. 2015;84(16):1660–8. doi: 10.1212/WNL.0000000000001494.
32. Oskoui M, Gazzellone MJ, Thiruvahindrapuram B, et al. Clinically relevant copy number variations detected in cerebral palsy. *Nat Commun*. 2015;6:7949. doi: 10.1038/ncomms8949.
33. Zarrei M, Fehlings DL, Mawjee K, et al. De novo and rare inherited copy-number variations in the hemiplegic form of cerebral palsy. *Genet Med*. 2018;20(2):172–80. doi: 10.1038/gim.2017.83.
34. Corbett MA, van Eyk CL, Webber DL, et al. Pathogenic copy number variants that affect gene expression contribute to genomic burden in cerebral palsy. *NPJ Genom Med*. 2018;3:33. doi: 10.1038/s41525-018-0073-4.
35. Sinibaldi L, Garone G, Mandarino A, et al. Congenital heart defects in CTNNB1 syndrome: raising clinical awareness. *Clin Genet*. 2023;104(5):528–41. doi: 10.1111/cge.14410.
36. Kumakura A, Takahashi S, Okajima K, Hata D. A haploinsufficiency of FOXP1 identified in a boy with congenital variant of Rett syndrome. *Brain Dev*. 2014;36(8):725–9. doi: 10.1016/j.braindev.2013.10.010.
37. England N. National genomic test directory. See ‘National genomic test directory for rare and inherited diseases’ and ‘eligibility criteria document’ at <https://www.england.nhs.uk/publication/national-genomic-test-directories>.
38. Janzing AM, Eklund E, De Koning TJ, Eggink H. Clinical characteristics suggestive of a genetic cause in cerebral palsy: a systematic review. *Pediatr Neurol*. 2024;153:144–51. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2023.11.012.
39. Leach EL, Shevell M, Bowden K, Stockler-Ipsiroglu S, van Karnebeek CD. Treatable inborn errors of metabolism presenting as cerebral palsy mimics: systematic literature review. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9:197. doi: 10.1186/s13023-014-0197-2.
40. Basu AP, Low K, Ratnaike T, Rowitch D. Genetic investigations in cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*. 2025;67(2):177–85. doi: 10.1111/dmcn.16080.
41. Gargano MA, Matentzoglou N, Coleman B, et al. The Human Phenotype Ontology in 2024: phenotypes around the world. *Nucleic Acids Res*. 2024;52(D1):D1333–46. doi: 10.1093/nar/gkad1047.

42. Horber V, Grasshoff U, Sellier E, Arnaud C, Krägeloh-Mann I, Himmelmann K. The role of neuroimaging and genetic analysis in the diagnosis of children with cerebral palsy. *Front Neurol*. 2020;11:628075. doi: 10.3389/fneur.2020.628075.
43. Lee RW, Poretti A, Cohen JS, et al. A diagnostic approach for cerebral palsy in the genomic era. *Neuromolecular Med*. 2014;16(4):821-44. doi: 10.1007/s12017-014-8318-6.
44. Mohandas N, Bass-Stringer S, Maksimovic J, et al. Epigenome-wide analysis in newborn blood spots from monozygotic twins discordant for cerebral palsy reveals consistent regional differences in DNA methylation. *Clin Epigenetics*. 2018;10:25. doi: 10.1186/s13148-018-0457-4.
45. Bahado-Singh RO, Vishweswaraiah S, Aydas B, Mishra NK, Guda C, Radhakrishna U. Deep learning/artificial intelligence and blood-based DNA epigenomic prediction of cerebral palsy. *Int J Mol Sci*. 2019;20(9):2075. doi: 10.3390/ijms20092075.
46. van Eyk CL, Corbett MA, Gardner A, et al. Analysis of 182 cerebral palsy transcriptomes points to dysregulation of trophic signaling pathways and overlap with autism. *Transl Psychiatry*. 2018;8(1):88. doi: 10.1038/s41398-018-0136-4.
47. Brittain HK, Scott R, Thomas E. The rise of the genome and personalized medicine. *Clin Med (Lond)*. 2017;17(6): 545-51. doi: 10.7861/clinmedicine.17-6-545.
48. Stark Z, Ellard S. Rapid genomic testing for critically ill children: time to become standard of care? *Eur J Hum Genet*. 2022;30(2):142-9. doi: 10.1038/s41431-021-00996-3.
49. Chung CCY, Leung GKC, Mak CCY, et al. Rapid whole-exome sequencing facilitates precision medicine in paediatric rare disease patients and reduces healthcare costs. *Lancet Reg Health West Pac*. 2020;1:100001. doi: 10.1016/j.lanwpc.2020.100001.

Adresa za dopisivanje:

Izv. prof. dr. sc. **Romana Gjergja Juraški**, dr. med.
Dječja bolnica Srebrnjak, Srebrnjak 100, Zagreb
e-mail: romanagjergja68@gmail.com

SUMMARY

Genetic factors and cerebral palsy

Romana Gjergja Juraški

Purpose: The historical descriptions of cerebral palsy (CP) contained case reports showing brain injury due to perinatal factors, with evident association between the environment, brain development, and CP. Recent studies indicate that 11 % to 40 % of persons with a clinical diagnosis of CP have monogenic conditions.

Procedures: This review considers recent genetic advances in the diagnostic care of CP and the implications of genomic management for CP.

Main findings: The genes identified in CP directly affect brain development or target other vulnerable tissues. These indirect mechanisms may increase the risk of perinatal stress or severe brain damage, leading to the clinical phenotype of CP. The findings support the idea of multiple possible etiologies leading to CP. As more research focuses on the genetic causes of CP, the list of identified genes provides a starting point for developing CP-specific gene panels. Availability of exome sequencing and budgets for genetic testing are still limited, and genetic markers can help identify individuals with CP who may benefit from genetic testing. There are factors that indicate an increased likelihood of a genomic diagnosis in CP, highlighting the need for a comprehensive genotype-phenotype reference data set to aid variant interpretation in cohorts with CP.

Conclusion: The diagnosis of CP remains clinical, but genetic testing presents an opportunity for the delivery of personalized medicine in populations with CP, adding useful data for targeted management of patients and counseling their families in the context of genetic guidance.

Key words: GENETICS; CEREBRAL PALSY; EXOME; GENOME; SEQUENCE ANALYSIS

Sekvenciranje nove generacije u dijagnostici monogenских poremećaja

Kristina Crkvenac Gornik¹, Jadranka Škorput¹, Ana Juras¹, Sanda Huljev Frković²

Sekvenciranje nove generacije (NGS, engl. next generation sequencing) ključno je za dijagnostiku monogenских poremećaja, uključujući neurokutane sindrome (fakomatoze) i sindrome vezivnog tkiva poput sindroma Noonan i Marfan. U ovom radu analizirali smo primjenu NGS-a u Kliničkom bolničkom centru Zagreb od 2022. godine. Ukupno je analiziran 131 uzorak pacijenata sa sumnjom na neurokutane sindrome i 94 uzorka sa sumnjom na Noonanov ili Marfanov sindrom i slične poremećaje. Rezultati su pokazali da 25 % pacijenata s kliničkom sumnjom na neurokutani sindrom nosi patogene varijante, pri čemu je najčešće zahvaćen gen NF1. Kod pacijenata sa sindromima Noonan ili Marfan, 23 % imalo je patogene mutacije, najčešće u genima PTPN11 i FBN1. Standardni NGS paneli gena prvenstveno detektiraju točkaste mutacije i manje delecije/duplikacije te kod većih uzročnih posljedica, poput delecija gena NF1, značajnu dijagnostičku ulogu ima i dodatna MLPA analiza za detekciju većih delecija koje NGS ne može otkriti. Primjena NGS-a omogućuje precizniju dijagnozu i diferencijaciju među genetski sličnim sindromima, što poboljšava kliničku praksu i genetsko savjetovanje.

Ključne riječi: SEKVENCIRANJE SLJEDEĆE GENERACIJE; NEUROKUTANI SINDROMI; NOONAN SINDROM; MARFAN SINDROM; NEUROFIBROMATOZE

UVOD

Sekvenciranje nove generacije (NGS, engl. Next-Generation Sequencing) rutinska je metoda u dijagnostici genetskih poremećaja kojom se detektiraju promjene gena na nukleotidnoj razini. Analizom podataka dobivenih NGS-om, otkrivene su brojne nukleotidne varijante koje su povezane s određenim fenotipskim abnormalnostima i kliničkim slikama pojedinih bolesti. Ovim radom obuhvaćeni su monogenски poremećaji koji se od 2022. godine mogu dijagnosticirati putem NGS panela u Kliničkom bolničkom centru Zagreb. Prvi uvedeni panel u dijagnostici bio je Panel za neurokutane poremećaje.

Neurokutani sindromi ili fakomatoze predstavljaju skupinu poremećaja koji prvenstveno zahvaćaju živčani sustav i kožu te se prezentiraju varijabilnom kliničkom slikom. Dvije najčešće fakomatoze su neurofibromatoza (NF, engl. *Neurofibromatosis*) i kompleks tuberozne skleroze (TSC, engl. *Tuberous Sclerosis Complex*). Neurofibromatoza tipa 1 (NF1) javlja se s učestalošću od 1:2500 do 1:3000 osoba i karakterizira se značajnom varijabilnošću kliničke slike (1). Gotovo svi oboljeli razvijaju pigmentirane mrlje boje bijele kave (CALMs, *café-au-lait*) na koži te brojne kožne neurofibrome. Klinički kriteriji za dijagnozu NF1 obično se razvijaju do osme godine života, dok se kožni neurofibromi

¹ Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Odjel za citogenetiku, KBC Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb, Hrvatska

² Klinika za pedijatriju, Zavod za genetiku i metabolizam, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb, 10000 Zagreb, Kišpatićeva 12, Hrvatska

obično ne pojavljuju do kasne adolescencije, što otežava postavljanje dijagnoze u djetinjstvu.

Prisutnost nekoliko *café-au-lait* mrlja u ranoj dobi uobičajena je među djecom, no ako su brojne, mogu upućivati na nasljednu bolest. Već sama prisutnost šest ili više takvih mrlja u ranom djetinjstvu sugerira sumnju na NF1 te predstavlja jedan od glavnih kliničkih dijagnostičkih kriterija. Međutim, višestruke *café-au-lait* mrlje mogu ukazivati i na druge monogenske bolesti, uključujući druge RASopatije. S obzirom na učestalost i potrebu diferencijalne dijagnoze, uveli smo panel za RASopatije, koji obuhvaća gene povezane s ovim poremećajima, kao i gene za sindromske bolesti aorte.

RASopatije su klinički definirana skupina genetskih bolesti uzrokovanih mutacijama u genima koji kodiraju komponente RAS/MAPK signalnog puta. Osim NF1, RASopatije uključuju Noonanov sindrom (NS), Noonanov sindrom s multiplim lentiginima (NSML), Costellov sindrom (CS), Legiusov sindrom (LS), kardio-facio-kutani sindrom (CFC) i kapilarno-malformacijsko-arteriovensko-malformacijski sindrom (CM-AVM). Iako svaka RASopatija ima specifične kliničke manifestacije, zbog zajedničkog mehanizma disfunkcije RAS/MAPK signalnog puta dijele fenotipske značajke, posebno u ranom djetinjstvu. Ove zajedničke kliničke manifestacije uključuju abnormalnosti kože, muskuloskeletnog sustava i očiju; kraniofacijalnu dismorfiju; kardiovaskularne anomalije; neurokognitivne poteškoće; hipotoniju te povećan rizik od razvoja tumora (2). NF1, LS i CM-AVM uzrokovani su mutacijama koje dovode do gubitka funkcije gena NF1, SPRED1 i RASA1, dok su NS, NSML i CFC sindromi genetski heterogeni i povezani s aktivirajućim mutacijama u genima PTPN11, SOS1, RAF1, BRAF, KRAS, NRAS, SHOC2, MAP2K1, MAP2K2, CBL, HRAS i RIT1. Postoje i dodatni geni koji se istražuju u kontekstu RASopatija, poput RASA2, A2ML1, PPP1CB, SOS2, MRAS, RRAS i LZTR1 (3).

Osim spomenutih panela, u laboratoriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb uveden je i NGS panel za nasljedne metaboličke bolesti, koji uključuje dijagnostiku fenilketonurije, nedostatka acil-CoA-dehidrogenaze srednjih i vrlo dugih lanaca, nedostatka karnitinskog nosača, izovaleričke acidurije, glutarne acidurije tipa 1, hiperkolesterolemije i hipermetioninemije.

U ovom radu prikazat ćemo pregled analize ciljanih genskih NGS panela u bolesnika s kliničkom slikom koja ukazuje na fakomatozu, bolesnika sa sindromskim poremećajima vezivnog tkiva, uključujući Marfanov sindrom te bolesnika sa sumnjom na sindrom Noonan čiji su uzorci zaprimljeni na Odjel za citogenetiku KBC-a Zagreb od 2022. godine.

MATERIJALI I METODE

Od uvođenja NGS panela 2022. godine, u Odjelu za citogenetiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb metodom sekvenciranja nove generacije (NGS) analiziran je 131 uzorak periferne krvi pacijenata sa sumnjom na fakomatozu te 94 uzoraka pacijenata sa sumnjom na Noonanov ili Marfanov sindrom i klinički slične poremećaje.

U panel za neurokutane i srodne sindrome uključeni su geni prikazani u Tablici 1, a analizirane su sve kodirajuće (egzonske) i nekodirajuće (intron-ske) regije navedenih gena.

Tablica 1. Popis gena obuhvaćenih panelom za neurokutane sindrome

Panel gena za neurokutane sindrome	
Neurofibromatoze	NF1
	NF2
Kompleks tuberozne skleroze	TSC1
	TSC2
Legius sindrom	SPRED1
Von Hippel Lindau sindrom	VHL
Piebaldizam	KIT

U panel za Noonanov, Marfanov i srodne sindrome uključeni su geni prikazani u Tablici 2. Sekvenciranjem su obuhvaćene sve kodirajuće regije analiziranih gena, uključujući granice egzona i introna (± 25 pb) (Tablice 1 i 2).

Tablica 2. Popis gena obuhvaćenih panelom za Noonanov/Marfanov i srodne sindrome

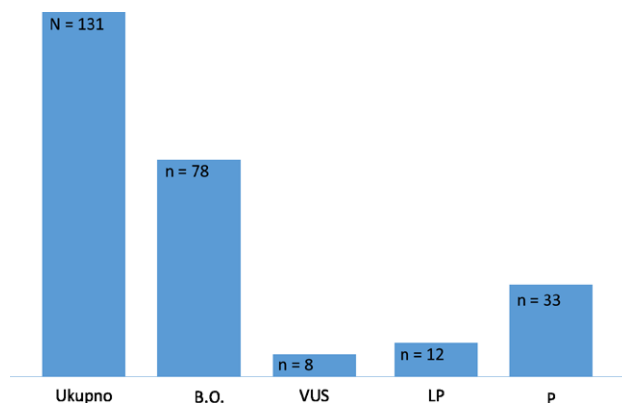
Panel gena za Noonan/Marfan i srodne poremećaje				
A2ML1	HRAS	NRAS	SHOC2	SOS2
BRAF	KRAS	RAF1	SKI	TGFB2
FBN1	MAP2K1	RASA2	SMAD2	TGFB3
FBN2	NF1	RIT1	SMAD3	TGFB1
LZTR1	PTPN11	RRAS	SOS1	TGFB2
CBL				

Izolacija genomske DNA iz periferne krvi provedena je primjenom komercijalnog kompleta QIAGEN FlexiGene DNA kit (QIAGEN, Hilden, Njemačka) (4). Koncentracija izolirane DNA određena je s pomoću Qubit 2.5 fluorimetra (Thermo Fisher Scientific).

Biblioteke za sekvenciranje pripremljene su korištenjem SureSelect XT HS2 kompleta reagensa (Agilent Technologies). Sekvenciranje je provedeno na uređaju DNBSEQ-G99 (MGI Tech Co.), a očitane sekvence DNA poravnate su prema referentnom genomu GRCh38. Dobiveni rezultati analizirani su s pomoću Genomize Seq platforme te pretraživanjem baza podataka OMIM, ClinVar, HGMD, Franklin, gnomAD i dbSNP.

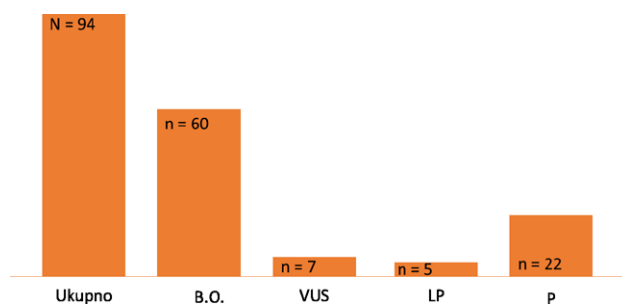
REZULTATI

Analizom podataka dobivenih ciljanim genskim sekvenciranjem, identificirane su varijante koje su kategorizirane prema njihovoj kliničkoj značajnosti u patogene (P, engl. *pathogenic*), vjerojatno patogene (LP, engl. *likely pathogenic*), varijante nepoznatog kliničkog značaja (VUS, engl. *variant of uncertain significance*) te benigne varijante (B, engl. *benign*) (Slika 1). U skupini pacijenata s neurokutanim sindromima ($n = 131$), kod 78 (60 %) pacijenata prisutne su benigne varijante. Kod 8 uzoraka (6 %) nađene su VUS varijante, dok su vjerojatno patogene varijante identificirane u 12 pacijenata (9 %). Patogene varijante potvrđene su kod 33 pacijenta (25 %) (Slika 1.). Najveći broj uzročnih varijanti identificiran je u genu NF1 ($n = 45$). Po dvije uzročne varijante otkrivene su u genima SPRED1 i VHL, dok je u genima TSC1 i TSC2 nađena samo jedna uzročna varijanta. Unutar skupine klinički značajnih varijanti gena NF1, 35 je smješteno u egzonskim regijama, dok je 10 smješteno u intronskim regijama. Najčešće detektirane varijante bile su „NF1 c.4600C>T HET” (egzon 35) i „NF1 c.1261-1G>T HET” (intron 11), svaka prisutna u tri neovisna uzorka, dok su ostale varijante bile pojedinačne. Kod ukupno 94 uzoraka pacijenata s kliničkom slikom koja ukazuje na poremećaj vezivnog tkiva ili na sindrom Noonan, kod 60 pacijenata (64 %) nisu nađene varijante povezane s kliničkom slikom. Varijante nepoznatog kliničkog značaja identificirane su kod 7 pacijenata (7 %), vjerojatno patogene kod 5 (5 %) i patogene varijante kod 22 (23 %) pacijenta (Slika 2.). Naj-



Prikazan je ukupan broj (N) analiziranih pacijenata te broj varijanti (n) koje su klasificirane kao P-patološke, LP-vjerojatno patološke, VUS-varijante nepoznatog kliničkog značaja. Stupac B.O. označava broj pacijenata kod kojih su pronađene isključivo benigne varijante.

Slika 1. Grafički prikaz distribucije patogenosti varijanti otkrivenih NGS ciljanim panelima za neurokutane sindrome.



Prikazan je ukupan broj (N) analiziranih pacijenata te broj varijanti (n) koje su klasificirane kao P-patološke, LP-vjerojatno patološke, VUS-varijante nepoznatog kliničkog značaja. Stupac B.O. označava broj pacijenata kod kojih su pronađene isključivo benigne varijante.

Slika 2. Grafički prikaz distribucije patogenosti varijanti otkrivenih NGS ciljanim panelima za poremećaje vezivnog tkiva, poput Noonan i Marfan sindroma.

češće uzročne varijante pronađene su u genu PTPN11 ($n = 10$), pri čemu je varijanta „PTPN11 c.182A>G HET” identificirana u dva neovisna uzorka, dok su ostale varijante bile pojedinačne. Osim PTPN11, klinički značajne varijante nađene su u genu FBN1 ($n = 7$), pri čemu je varijanta FBN1 „c.7774T>C HET” identificirana u dva uzorka. Ostale pojedinačne patogene varijante detektirane su u genima: RIT1, RAF, BRAF i SHOC2.

RASPRAVA

U ranom djetinjstvu mogu se pojaviti nesigurne kliničke dijagnoze zbog sličnosti simptoma NF1 i drugih RASopatija ili bolesti povezanih s café-au-lait mrljama. Primjerice, istovremena prisutnost

café-au-lait mrlja i pjega u pregibima kože može se vidjeti kod djece s NF1 i LS (5, 6). Stoga, djeca sličnog početnog kliničkog fenotipa mogu nositi mutacije u različitim genima, što ih predisponira različitim kliničkim tijekovima koji zahtijevaju specifične medicinske pristupe. U tom kontekstu, genetsko testiranje može pomoći u potvrdi kliničke sumnje, omogućujući rano i precizno praćenje. Primjerice, genetsko testiranje se preporučuje za potvrdu NF1 kod djece koja ispunjavaju samo pigmentacijske dijagnostičke kriterije (7). Trenutačne strategije genetskog testiranja za ove nasljedne bolesti uključuju multigenске panele ili sekvenciranje cijelog egzoma, što omogućuje rješavanje problema genetske heterogenosti i nejasnih kliničkih prezentacija. S obzirom na visoku moć i isplativost NGS metoda (sekvenciranja nove generacije), sve se više prihvaća genetsko testiranje i kod nesigurnih, ali sugestivnih kliničkih prezentacija, što dovodi do povećanog broja testiranja, osobito kod djece. S druge strane, sve veći broj identificiranih genetskih varijanti donosi izazove u njihovoj interpretaciji i analizi patogenosti. Kako bi se ovaj proces standardizirao, smjernice Američkog koledža za medicinsku genetiku i genomiku (ACMG/AMP) široko su prihvaćene u kliničkoj praksi (8). Međutim, potrebno ih je prilagoditi specifičnostima testiranih genetskih stanja. Kod RASopatija dodatna složenost proizlazi iz postojanja bolesti uzrokovanih i gubitkom i povećanjem funkcije gena. Nedavno je ClinGen RASopathy Expert Panel objavio nove smjernice za poboljšanje povezanosti gena i bolesti te interpretaciju varijanti za NS, NSML, CS, CFC i Noonan-like sindrome. Zanimljivo je da je kod našeg pacijenta koji je upućen na dijagnostiku zbog sumnje na sindrom Noonan nađena VUS varijanta u egzonu 37 gena NF1, što ukazuje na zajedničke genetske mehanizme u patogenezi ovih sindroma i važnost genetičkog testiranja.

Neurofibromatoza tipa 1 (NF1) najčešće je uzrokovana točkastim mutacijama u NF1 genu, koje čine većinu patogenih varijanti povezanih s bolešću. Međutim, u određenom postotku slučajeva uzrok može biti i velika delecija koja zahvaća cijeli NF1 gen ili veće regije kromosoma 17q11.2. Ove velike delecije obično uključuju više od 1,4 Mb DNA i mogu obuhvatiti susjedne gene, što može rezultirati težim fenotipom bolesti.

Budući da standardni NGS paneli gena prvenstveno detektiraju točkaste mutacije i manje delecije/duplikacije, oni nisu prikladni za otkrivanje velikih delecija cijelog gena NF1. Za detekciju ovakvih strukturnih varijanti potrebno je koristiti metode poput MLPA (engl. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) ili CNV (engl. *Copy Number Variation*) analiza.

Kod jednog našeg pacijenta NGS panelom nije otkrivena patogena varijanta u NF1 genu, ali je dodatna analiza s pomoću MLPA setova P081 i P082 pokazala postojanje delecije cijelog NF1 gena, što potvrđuje važnost komplementarnog pristupa u genetskoj dijagnostici NF1.

Ova saznanja su u skladu s literaturnim podacima koji navode da otprilike 5-10 % pacijenata s NF1 imaju veliku deleciju NF1 gena, što zahtijeva specifične dijagnostičke metode poput MLPA ili array-CGH za njihovo detektiranje (9).

Detekcija uzročnih varijanti primjenom naših NGS panela potvrđuje kliničku sumnju i omogućuje primjereno genetsko savjetovanje obitelji bolesnika. U slučaju negativnog nalaza, s obzirom na nemogućnost otkrivanja velikih delecija i/ili duplikacija gena, strukturnih preslagivanja, mozaicizma u niskom postotku te regija u genima koje nisu obuhvaćene panelom, dijagnoza neurokutanog sindroma i sindroma poremećaja vezivnog tkiva nije u potpunosti isključena. U takvim slučajevima indicirana je konzultacija vodećeg liječnika i genetičara s ciljem utvrđivanja potrebe i mogućnosti daljnje genetske obrade.

Kratice:

CALMs	– <i>café-au-lait</i> maculae
CFC	– kardio-faciokutani sindrom
CM-AVM	– kapilarno-malformacijski-arteriovensko-malformacijski kutani sindrom
CNV	– engl. <i>copy number variation</i>
CS	– Costellov sindrom
LS	– Legius sindrom
MLPA	– engl. <i>Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</i>
MS	– Marfanov sindrom
NF	– neurofibromatoza
NGS	– sekvenciranje sljedeće generacije, engl. <i>next generation sequencing</i>
NS	– Noonanov sindrom
NSLM	– Noonanov sindrom s multiplim lentiginima
TSC	– tuberozna skleroza kompleksa

LITERATURA

1. Lee Y, Chopra M, Kim S, Parkin D, Barnett-Tapia C. Incidence and prevalence of neurofibromatosis type 1 and 2: a systematic review and meta-analysis. *Orphanet J Rare Dis*. 2023;18(1):292.
2. Bezniakow N, Gos M, Obersztyn G. The RASopathies as an example of RAS/MAPK pathway disturbances – clinical presentation and molecular pathogenesis of selected syndromes. *Dev Period Med*. 2014;18(3):285–96.
3. Grant AR, Cushman BJ, Cavé H, et al. Assessing the gene-disease association of 19 genes with the RASopathies using the ClinGen gene curation framework. *Hum Mutat*. 2018;39(11):1485–93. doi: 10.1002/humu.23624.
4. Escamilla R, Camarena B, Saracco-Alvarez R, Fresán A, Hernández L, Aguilar-García A. Association study between COMT, DRD2, and DRD3 gene variants and antipsychotic treatment response in Mexican patients with schizophrenia. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2018;14:2981–7.
5. Giugliano T, Santoro C, Torella A, et al. Clinical and genetic findings in children with neurofibromatosis type 1, Legius syndrome, and other related neurocutaneous disorders. *Genes (Basel)*. 2019;10(8):580. doi: 10.3390/genes10080580.
6. Kavamura MI, Leoni C, Neri G. Dermatological manifestations, management, and care in RASopathies. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2022;190(4):452–8.
7. Anderson C, Sharon E. Café-au-lait macules and associated genetic syndromes. *J Pediatr Health Care*. 2020;34(1):71–81.
8. Richards S, Aziz N, Bale S, et al.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405–24. doi: 10.1038/gim.2015.30.
9. Kehrer-Sawatzki H, Mautner V, Cooper DN. Emerging genotype-phenotype relationships in patients with large NF1 deletions. *Hum Genet*. 2017;136(4):349–76.

Adresa za dopisivanje:

Doc.dr.sc. **Kristina Crkvenac Gornik**, mag. biol. mol.
Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Odjel za citogenetiku
KBC Zagreb
Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb
e-mail: kcrkvena@kbc-zagreb.hr

SUMMARY

Next-generation sequencing in the diagnosis of monogenic disorders

Kristina Crkvenac Gornik, Jadranka Škorput, Ana Juras, Sanda Huljev Frković

Next-generation sequencing (NGS) is essential for diagnosing monogenic disorders, including neurocutaneous syndromes (phakomatoses) and connective tissue syndromes such as Noonan and Marfan syndromes. A retrospective study was conducted from 2022 to 2025 to analyse the application of NGS at the University Hospital Centre Zagreb. A total of 131 patient samples suspected of neurocutaneous syndromes and 94 samples suspected of Noonan or Marfan syndrome were analyzed. The results showed that 25 % of patients clinically suspected of having a neurocutaneous syndrome carried pathogenic variants, with the NF1 gene being the most frequently affected. Among patients with connective tissue syndromes, 23 % had pathogenic mutations, most commonly in the PTPN11 and FBN1 genes. Standard NGS gene panels primarily detect point mutations and small deletions/duplications, while for larger causal alterations, such as NF1 gene deletions, additional MLPA analysis plays a significant diagnostic role in detecting larger deletions that NGS cannot identify. The application of NGS enables more precise diagnosis and differentiation among genetically similar syndromes, improving clinical practice and genetic counseling.

Key words: HIGH-THROUGHPUT NUCLEOTIDE SEQUENCING; NEUROCUTANEOUS SYNDROMES; NOONAN SYNDROME; MARFAN SYNDROME; NEUROFIBROMATOSES;

Kada ima smisla učiniti genetičku obradu u djece oboljele od malignih bolesti?

Tamara Žigman^{1,2}, Ivan Tečer¹, Mihaela Bobić-Rasonja²

Sindromi nasljednog raka su monogenske nasljedne bolesti kod kojih postoji povišen rizik za razvoj jedne ili više malignih bolesti tijekom života pojedinca, u odnosu na opću populaciju. Većinom se klinički manifestiraju u odrasloj životnoj dobi, a manji broj njih se može očitovati u djetinjstvu. Danas je poznato više od 100 sindroma nasljednog raka koji se manifestiraju u dječjoj dobi. U ovom tekstu spomenuti su oni najčešći.

Rano otkrivanje pedijatrijskog bolesnika sa sindromom nasljednog raka ima veliku važnost za dijete i njegovu obitelj. Ono omogućuje rano otkrivanje maligne bolesti, bolju prognozu i povoljnije ishode liječenja, a nekada i usmjereni odabir terapijskih opcija. Omogućuje nam planiranje primjerenog praćenja s ciljem otkrivanja multiplih maligniteta. Selektivni probir članova obitelji omogućuje nam otkrivanje srodnika pod rizikom i genetičko savjetovanje članova obitelji.

Ključne riječi: NEOPLAZME; SINDROM; GENETIČKO SAVJETOVANJE; GENSKO TESTIRANJE

UVOD

Poznato je da 10 – 15 % slučajeva malignih bolesti u djece u podlozi ima neki od sindroma nasljednog raka. Njih 50 % nema pozitivnu obiteljsku anamnezu malignih bolesti. Sindromi nasljednog raka su monogenske nasljedne bolesti kod kojih postoji povišen rizik za razvoj jedne ili više malignih bolesti tijekom života pojedinca, u odnosu na opću populaciju. Većinom se klinički manifestiraju u odrasloj životnoj dobi, a manji broj njih se može očitovati u djetinjstvu. Geni odgovorni za nastanak ovih sindroma pripadaju u skupinu gena koji sudjeluju u popravku molekule deoksiribonukleinske kiseline (DNA, engl. *deoxyribonucleic acid*), regulaciji staničnog ciklusa ili apoptozi. Nasljeđivanje prati autosomno recesivni ili, češće, autosomno dominantan način nasljeđivanja s varijabilnom penetrantnošću (1–3).

U potonjem slučaju, pojedinac nasljeđuje germinativnu mutaciju od jednog od roditelja i ona je prisutna u svim stanicama tijela. Maligna bolest nastaje u slučaju „dvostrukog udarca“, odnosno nastanka somatske mutacije na drugom alelu u istom genu. Ovo je poznato kao Knudsonova teorija dvostrukog udarca (4).

KADA POSUMNJATI DA SE KOD PEDIJATRIJSKOG ONKOLOŠKOG BOLESNIKA RADI O SINDROMU NASLJEDNOG RAKA?

- onkološki pacijent tipične kliničke prezentacije (npr. bilateralni retinoblastom)
- pacijent koji je obolio od više od jedne maligne bolesti ili pacijent s bilateralnim tumorima

¹ Zavod za medicinsku genetiku i bolesti metabolizma, Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb

² Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Šalata 2, 10000 Zagreb

- onkološki pacijent s dismorfijom i/ili razvojnim zaostajanjem
- onkološki pacijent s pozitivnom obiteljskom anamnezom malignih bolesti (zahvaćenost više generacija)
- pacijent s tipičnim kožnim promjenama (npr. mrlje boje bijele kave ili teleangiektazije)
- onkološki pacijent smanjenog ili prekomjernog rasta
- pacijent s rijetkim tumorom

Za svakog pacijenta koji udovoljava jednom od ovih kriterija poželjan je pregled genetičara.

KOGA UPUTITI NA GENETIČKU OBRADU I KOJU VRSTU ANALIZE ODABRATI?

Tijekom posljednjih desetak godina došlo je do značajnog napretka u tehnologijama analize gena, osobito na području sekvenciranja nove generacije. Sindromi nasljednog raka najčešće se dijagnosticiraju analizom ciljanih genskih panela koji uključuju analizu više gena odjednom. Iako su nam danas ovakve analize lako dostupne, ovdje treba naglasiti da je neselektivna primjena ovih analiza nepoželjan dijagnostički korak. Dobra anamneza i klinički pregled i dalje su temelj putokaza k odabiru prave dijagnostičke metode (2). Kao primjer može poslužiti sindrom Beckwith-Wiedemann koji karakteriziraju prekomjerni rast, makroglosija, u nekim slučajevima hemihipertrofija i povišen rizik od Wilmsovog i nekih drugih tumora. S obzirom na to da u podlozi može biti delecija regije 11p15, ali mogu biti i epigenetske promjene iste regije, metoda odabira ovdje bi bila msMLPA (engl. *methylation-specific multiplex ligation dependent probe amplification*) (4, 5). Kod sindroma WAGR (Wilmsov tumor, aniridija, genitalne abnormalnosti i mentalna retardacija) prisutna je delecija regije 11p13 te kod sumnje na ovaj sindrom treba odabrati metodu komparativne genomske hibridizacije na čipu (arrayCGH), odnosno molekularni kariogram (6). Oba su sindroma predisponirajuća za Wilmsov tumor, ali su klinički prepoznatljivi i metode kojima se dolazi do dijagnoze značajno se razlikuju.

Važno je poznavati dosege i ograničenja metoda koje koristimo u dijagnostici genetskih bolesti i primjenjivati ciljani pristup kada god je to moguće.

Danas je poznato više od 100 sindroma nasljednog raka koji se manifestiraju u dječjoj dobi. U ovom tekstu spomenut ćemo one najčešće.

Sindrom Down

Djeca s trisomijom 21 imaju značajno povišen rizik za akutnu leukemiju u odnosu na opću populaciju (navodi se oko 500 puta veći rizik). Oko 10 % djece s Downovim sindromom razvijaju prolazni mijeloproliferativni sindrom, akutnu mijeloičnu leukemiju ili akutnu B-limfoblastičnu leukemiju. Trisomija 21 predisponira nastanku mutacija gena GATA1 koje su karakteristika prolaznog mijeloproliferativnog poremećaja i akutne mijeloične leukemije i povezane su s dobrom prognozom i povoljnim odgovorom na liječenje. Kod akutne B-limfoblastične leukemije ne nalaze se GATA1 mutacije, već *IKZF1* delecije i mutacije gena *JAK2* (tirozin-kinaza) što otvara mogućnost ciljanog liječenja (7).

Sindrom Beckwith-Wiedemann

Radi se o sindromu prekomjernog rasta koji karakterizira najčešće prolazni hiperinzulinizam i sklonost hipoglikemiji, organomegalija, makrosomija, makroglosija, defekti trbušne stijenke i u nekim slučajevima hemihipertrofija. Delecije, točkaste mutacije ili metilacijske promjene regije 11p15 molekularna su podloga ovog sindroma. Rizik od malignih bolesti kod ove djece iznosi oko 7,5 % i prisutan je u prvih 8 godina života, a kasnije značajno pada. Najčešći tumor u djece sa sindromom Beckwith-Wiedemann je Wilmsov tumor, slijede hepatoblastom, karcinom nadbubrežne žlijezde, neuroblastom i rabdomiosarkom. Stoga se u djece s ovim sindromom preporučuje aktivno traganje za ovim tumorima do 8. godine života. Do 4. godine života preporučuje se mjerenje tumorskih markera (alfafetoprotein - AFP, neuron specifična enolaza - NSE, beta-HCG - humani korionski gonadotropin i mjerenje homovanilinske i vanilmandelične kiseline u urinu) i ultrazvuk (UZV) abdomena svaka 3 mjeseca, a od 4. do 8. godine života svakih 6 mjeseci (5, 8).

Sindrom Denys-Drash i sindrom WAGR

Sindrom Denys-Drash nastaje zbog točkastih mutacija egzona 8 ili 9 u genu *WT1*, a karakterizira

ga kongenitalna nefropatija, poremećaji diferencijacije spola i sklonost Wilmsovu tumoru. Sindrom WAGR nastaje zbog delecije unutar regije 11p13 (uključuje gene *PAX6* i *WT1*), a karakterizira ju ga Wilmsov tumor, aniridija, genitalne abnormalnosti i mentalna retardacija. Djeca s delecijom gena *WT1* imaju 50 % rizik obolijevanja od Wilmsova tumora. Kod oba sindroma preporučuje se UZV abdomena svaka 4 mjeseca do 5. godine života (6, 8).

Perlmanov sindrom

Radi se o autosomno recesivnom sindromu prekomjernog rasta koji karakteriziraju makrosomija, tipična dismorfija, nefromegalija, nefroblastomatoza, i sklonost Wilmsovom tumoru. Djeca s ovim sindromom obolijevaju od Wilmsovog tumora ranije od prosjeka i često imaju bilateralnu bolest. Uzrokovan je bialelnim mutacijama gena *DIS3L2*. Važna je distinkcija prema sindromu Beckwith-Wiedemann s obzirom na preklapajuć fenotip (8).

Sindrom Li-Fraumeni (TP53) i sindrom DICER1

Sindrom Li-Fraumeni nastaje uslijed heterozigotnih germinativnih mutacija gena *TP53*. Karakteriziraju ga rijetki tumori dječje dobi ili adolescencije. Pacijenti sa sindromom Li-Fraumeni u 50 % slučajeva obolijevaju od barem jedne maligne bolesti do 30. godine života, a trećina onih koji prežive oboli tijekom života od malignih bolesti multiplih primarnih sijela. Protein *TP53* transkripcijski je faktor koji ima regulatornu funkciju koja potiče popravak DNA i tumorsku supresiju. Gen *TP53* somatski je mutiran u brojnim karcinomima. Tumori karakteristični za sindrom Li-Fraumeni su sarkomi mekih tkiva, osteosarkomi, adrenokortikalni karcinomi, tumori središnjeg živčanog sustava i rani rak dojke. Stoga se u oboljelih preporučuje magnetska rezonancija (MR) cijeloga tijela jednom godišnje kao standard praćenja ovih bolesnika. Zbog visokog rizika sekundarnih tumora, radioterapija nije poželjna terapijska opcija u ovih pacijenata i treba ju izbjeći kada je to moguće (9).

Sindrom dijelom preklapajuć sa sindromom Li-Fraumeni je sindrom *DICER1*. Gen *DICER1* kodira endoribonukleazu, helikazu odgovornu za stvaranje malih interferirajućih ribonukleinskih kiselina (siRNA, engl. *small interfering ribonucleic acid*) i

mikroRNA te facilitira aktivaciju RNA kompleksa za utišavanje (engl. *RNA-induced silencing complex*). Ima veliku važnost u embriogenezi pa ne iznenađuje da se kod ovih bolesnika javljaju embrionalni tumori poput pleuropulmonalnog blastoma, cističnog nefroma, embrionalnog rabdomiosarkoma, primitivnog neuroektodermalnog tumora i drugih.

Nasljedni retinoblastom

Retinoblastom je embrionalni tumor mrežnice i najčešći tumor oka u djece. Više od 90 % slučajeva dijagnosticira se prije 5. godine života. U 75 % slučajeva retinoblastoma bolest je unilateralna i nastaje zbog sporadičnih, somatskih mutacija gena *RB1*. U 25 % pacijenata bolest je bilateralna i kod pacijenata nalazimo germinativnu mutaciju gena *RB1* ili deleciju cijelog gena, najčešće u okviru mikroleleksijskog sindroma na 13. kromosomu. Kod ovih pacijenata potrebno je doživotno praćenje malignih bolesti zbog visokog rizika od osteosarkoma i sarkoma mekih tkiva. Također je poželjno izbjeći zračenje. U malog postotka pacijenata s germinativnim mutacijama bilateralni retinoblastom može biti udružen s pineoblastomom - trilateralni retinoblastom. Ovi pacijenti imaju izrazito lošu prognozu (10).

Ataksija teleangiektazija

Radi se o autosomno recesivnom poremećaju zbog bialelnih mutacija gena *ATM*. Karakteristična je cerebelarna ataksija, okulokutane teleangiektazije, imunodeficijencija, plućna bolest (zbog recidivirajućih plućnih infekcija) i sklonost malignim bolestima. U djece se najčešće javljaju hematološki maligniteti, a u odraslih još i rak dojke, jajnika, želuca, sarkomi itd. Žene koje su heterozigotne nositeljice mutacije gena *ATM* imaju povišen rizik za rak dojke i jajnika (11).

Fanconijeva anemija

Radi se, najčešće, o autosomno recesivnom poremećaju koji karakterizira niski rast, anomalije skeleta (osobito palca i radijusa), anomalije oka i genitourinarnog trakta (potkovasti bubreg, hipospadija) te sklonost malignitetima, najčešće mijelodisplaziji i akutnoj mijeloičnoj leukemiji, a u odrasloj dobi karcinomima glave i vrata. Bialelne mutacije u jednom od 21 gena (najčešće s prefiksom *FANCI*), monoalelne mutacije u genu *RAD51*

(autosomno dominantna Fanconijeva anemija) i hemizigotne patogene varijante gena *FANCB* (X-vezana Fanconijeva anemija) uzrok su Fanconijeve anemije (12).

Bloomov sindrom

Za Bloomov sindrom karakterističan je zaostatak rasta, mikrocefalija, imunodeficijencija, preosjetljivost na sunčevu svjetlost, inzulinska rezistencija i visok rizik malignih bolesti već od rane životne dobi (leukemije, limfomi, orofaringealni karcinomi i dr.). Unatoč mikrocefaliji, pacijenti imaju normalnu inteligenciju. Bolest je autosomno recesivna i nastaje uslijed bialelnih mutacija gena *BLM*. Karakteristična citogenetska abnormalnost je pojačana lomljivost kromosoma u mediju koji sadrži 5-fluoro-2-deoksiuridin (11).

Familijarna leukemija

Heterozigotne patogene varijante gena *CEBPA* uzrokuju obiteljsku sklonost akutnoj mijeloičnoj leukemiji. Gen *CEBPA* kodira transkripcijski čimbenik važan u diferencijaciji krvnih stanica. Sklonost se nasljeđuje autosomno dominantno. Bolest se javlja ranije nego što je uobičajeno za akutnu mijeloičnu leukemiju. Odgovor na liječenje je najčešće povoljan, ali postoji sklonost ponavljanju leukemičnih epizoda tijekom života (13).

Sindrom loma Nijmegen

Uzrok sindroma loma Nijmegen (engl. *Nijmegen breakage syndrome*) bialelne su patogene varijante u genu *NBN*, koji kodira protein nibrin, dio kompleksa za popravak dvolančanih lomova DNA. Karakteriziraju ga mikrocefalija, retrognatija, zaostatak rasta, imunodeficijencija, mrlje boje bijele kave, usporen intelektualni razvoj u kasnijoj dobi i preuranjena ovarijska insuficijencija. Od malignih bolesti najčešći su limfomi, meduloblastomi, gliomi i rabdomiosarkomi. Ovaj je sindrom češći u slavenskoj populaciji gdje je najčešće uzrokovan određenom tzv. *founder* mutacijom. Potreban je oprez pri primjeni ionizirajućeg zračenja u liječenju malignoma. Heterozigotni nositelji patogenih varijanti u genu *NBN* imaju povećan rizik za razvoj karcinoma dojke i prostate u odrasloj dobi (11).

Gorlinov sindrom

Gorlinov (Gorlin-Goltzov) sindrom sklonosti karcinomima nasljeđuje se autosomno dominantno,

a uzrokovan je mutacijama gena *PTCH1* i *SUFU*. Fenotipske su značajke ovog sindroma grube crte lica, makrocefalija, hipertelorizam, multipli bazocelularni karcinomi u ranoj dobi, keratociste čeljusti, palmarne i plantarne jamice, lamelarna kalcifikacija falksa velikog mozga, povećan rizik za razvoj fibroma srca i jajnika te rizik od razvoja meduloblastoma u ranoj dobi. U slučaju mutacija gena *PTCH1* potrebno je redovno dermatološko i stomatološko praćenje, ultrazvučni pregled srca u dojenačkoj dobi, a MR mozga preporučuje se u slučaju sumnje na meduloblastom. Kod oboljelih posljedično mutaciji gena *SUFU*, uz sve prethodno navedeno, potreban je i redoviti MR mozga. U slučaju pojave meduloblastoma preporučuje oprez pri primjeni zračenja zbog povećanog rizika za razvoj karcinoma kože (3).

Neurofibromatoza

Osim tipičnih fenotipskih obilježja (mrlje boje bijele kave, Lischovi noduli, intelektualna zaostalost...), bolesnici s neurofibromatozom imaju sklonost tumorima. Nasljeđuju se autosomno dominantno, a česta je i *de novo* pojava. U neurofibromatozi tip 1 postoji sklonost benignim neurofibromima perifernih živaca, a u neurofibromatozi tip 2 tumorima vestibulokohlearnog živca i švanomima. U pacijentica s neurofibromatozom tip 1 postoji i sklonost pleksiformnim neurofibromima i ranom raku dojke. Protein NF1 je važan regulator RAS i PIK3CA signalnih putova pa ne iznenađuje da su i neurofibromatoze i rasopatije obilježene povišenim rizicima od specifičnih malignih bolesti. Stoga je za ove pacijente važno doživotno usmjereno praćenje (1).

Rasopatije

Rasopatije su skupina kompleksnih sindroma koje nastaju uslijed germinativnih mutacija gena koji kodiraju komponente RAS-MAP signalnog puta. Karakterizira ih tipična dismorfija, kožne promjene (često mrlje boje bijele kave), srčane greške i sklonost malignim bolestima. Kod kardiofaciokutanog sindroma povišen je rizik od akutne mijeloične leukemije, kod sindroma Costello od rabdomiosarkoma, kod sindroma LEOPARD (sindrom Noonan s multiplim lentiginozama) od akutne mijeloične leukemije, a kod sindroma Noonan od neuroblastoma, juvenilne mijelomonocitne leukemije i akutne limfoblastične leukemije. Stoga je

važno pravovremeno prepoznavanje ovih sindroma i usmjereno praćenje (1, 14).

Sindrom Rothmund-Thomson

Djeca imaju karakterističan fenotip koji uključuje poikilodermu, rijetku kosu, obrve i trepavice, niski rast, juvenilnu kataraktu, anomalije kostura (radijalni i ulnarni defekti, hipoplazija patele) i zuba te sklonost malignitetima, osobito osteosarkomu. Nasljeđivanje je autosomno recesivno, uzrokovano bialelnim mutacijama gena *ANAPC1* ili *RECQL4* (11).

Familijarna adenomatozna polipoza i Peutz-Jeghersov sindrom

Heterozigotne patogene varijante gena *APC* uzrok su adenomatozne polipoze crijeva. U 25 % pacijenata radi se o *de novo* mutaciji. Razlikujemo klasični i atenuirani fenotip. Rizik od kolorektalnog karcinoma može se ispoljiti već u adolescenciji, povećan je rizik od meduloblastoma, a u nekih pacijenata i od hepatoblastoma. Uz navedene tumore mogu se javljati dezmoidni tumori, papilarni karcinom štitnjače, adenokarcinom gušterače i adenokarcinom želuca. Postoji određena korelacija genotipa i fenotipa tako da ne nose sve mutacije jednake rizike za kolorektalni karcinom i druge spomenute tumore. U većine pacijenata se profilaktička kolektomija obavi u kasnoj adolescenciji ili ranoj mladosti. Praćenje je doživotno i usmjereno ciljanom traganju za tumorima probavnog trakta i ostalih sijela. Peutz-Jeghersov sindrom uzrokovan je heterozigotnim patogenim varijantama u genu *STK11*, a karakteriziraju ga hamartomatozni polipi probavnog sustava, mukokutane hiperpigmentacije i sklonost karcinomima. Polipi se najčešće nalaze u tankom crijevu, a rjeđe u želucu, debelom crijevu te u dišnom i mokraćnom sustavu. Mukokutane hiperpigmentacije javljaju se u obliku tamnoplavih do tamnosmeđih makula oko usta, očiju, nosnica, perianalno, na prstima i na bukalnoj sluznici, a prepoznavanje ovih lezija bitno je s obzirom na to da se javljaju ranije u djetinjstvu, prije drugih simptoma. Povećan je rizik od karcinoma debelog crijeva, želuca, gušterače, dojke i jajnika te rizik od tumora Sertolijevih stanica testisa pa kod dječaka s ginekomastijom treba uzeti u obzir mogućnost potonjeg tumora u sklopu sindroma. U ovih pacijenata preporučuju se endoskopske pretrage gastrointestinalnog sustava od 8. godi-

ne, ginekološki pregledi djevojčica od 8. godine te pregledi testisa kod dječaka od 10. godine života (2, 15).

Sindrom von Hippel-Lindau

Radi se o rijetkom, autosomno dominantnom sindromu koji nastaje uslijed heterozigotnih mutacija gena *VHL*. Bolest je karakterizirana hemangiomima središnjeg živčanog sustava i mrežnice, feokromocitomima i karcinomima bubrega svijetlih stanica. Ciljano godišnje praćenje uključuje neurološki pregled, oftalmoskopiju, audiološki pregled, katekolamine u urinu i MR neuroaksisa (2, 3).

ZAKLJUČAK

U Republici Hrvatskoj danas imamo na raspolaganju gotovo sve dijagnostičke metode za dijagnozu sindroma nasljednog raka koje su spomenute prethodno u tekstu. Izazov i dalje predstavlja dokazivanje velikih genskih preuredbi (delecija/duplikacija) u genima koji su sastavnica panela za nasljedni rak s obzirom na to da je tehnologija sekvenciranja nove generacije ograničena u detekciji promjena većih od 25 parova baza. U tom slučaju može nam pomoći ciljani PCR (engl. *polymerase chain reaction*) i MLPA (engl. *multiplex ligation dependent probe amplification*) ili arrayCGH, koja je neselektivna metoda, ali kod koje je pokrivenost regije od interesa nekada neadekvatna.

Rano otkrivanje pedijatrijskog bolesnika sa sindromom nasljednog raka ima veliku važnost za dijete i njegovu obitelj. Ono omogućuje rano otkrivanje maligne bolesti, bolju prognozu i povoljnije ishode liječenja, a nekada i usmjereni odabir terapijskih opcija. Omogućuje nam planiranje primjerenog praćenja s ciljem otkrivanja multiplih maligniteta. Selektivni probir članova obitelji omogućuje nam otkrivanje srodnika pod rizikom i genetičko savjetovanje članova obitelji.

Nove metode dijagnostike, prvenstveno sekvenciranje nove generacije, omogućit će u budućnosti otkrivanje novih gena i predispozicijskih sindroma te zasigurno i razvoj ciljanih terapijskih opcija.

U konačnici, važno je dotaknuti se i etičkih principa u dijagnostici tumorskih sindroma u djece. Smatra se etički neprihvatljivim i ne preporučuje

se prediktivno testiranje maloljetnika za one tumorske sindrome koji se manifestiraju u odrasloj dobi. Ako oboljele maloljetnike testiramo genskim panelom koji uključuje i gene s predispozicijom za malignu bolest u odrasloj dobi, prije testiranja treba roditelje upozoriti o mogućnosti takvog nalaza. Izazovno je i tumačenje potencijalnih varijanti nepoznatog kliničkog značaja. Zato je, kada god je to moguće, poželjan ciljani pristup dijagnostici koji uključuje detaljnu anamnezu i klinički pregled bolesnika te promišljen odabir dijagnostičke metode koju ćemo koristiti, uz nezostavan informirani pristanak roditelja maloljetnika.

Kratice:

DNA	– deoksiribonukleinska kiselina (engl. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
msMLPA	– metilacijski specifična amplifikacija s pomoću višestrukog umnažanja sonde ovisnih o ligaciji (engl. <i>methylation specific multiplex ligation dependent probe amplification</i>)
WAGR	– Wilmsov tumor, aniridija, genitalne abnormalnosti i mentalna retardacija
siRNA	– mala interferirajuća ribonukleinska kiselina (engl. <i>small interfering ribonucleic acid</i>)
MR	– magnetska rezonancija
UZV	– ultrazvuk
AFP	– alfafetoprotein
NSE	– neuron-specifična enolaza
HCG	– humani korionski gonadotropin
PCR	– lančana reakcija polimeraze (engl. <i>polymerase chain reaction</i>)
MLPA	– amplifikacija s pomoću višestrukog umnažanja sonde ovisnih o ligaciji (engl. <i>multiplex ligation dependent probe amplification</i>)

LITERATURA

1. Saletta F, Pozza LD, Byrne JA. Genetic causes of cancer predisposition in children and adolescents. *Transl Pediatr* [Internet]. 2015 Apr [cited 4. 2. 2025.];4(2):675–675. Available from: <https://tp.amegroups.org/article/view/6267>. doi: 10.3978/j.issn.2224-4336.2015.04.08.
2. Garutti M, Foffano L, Mazzeo R, et al. Hereditary Cancer Syndromes: A Comprehensive Review with a Visual Tool. *Genes*. 2023 Apr 30;14(5):1025. doi: 10.3390/genes14051025.
3. Pruteanu DP, Olteanu DE, Cosnarovici R, Mihut E, Nagy V. Genetic predisposition in pediatric oncology. *Med Pharm Rep* [Internet]. 2020 Oct [cited 4. 2. 2025.];93(4):323–34. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7664724/>. doi: 10.15386/mpr-1576.
4. Brodeur GM, Nichols KE, Plon SE, Schiffman JD, Malkin D. Pediatric Cancer Predisposition and Surveillance: An Overview, and a Tribute to Alfred G. Knudson Jr. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2017 May 31 [cited 4. 2. 2025.];23(11):e1–5. Available from: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0702>. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0702.
5. Brioude F, Kalish JM, Mussa A, et al. Clinical and molecular diagnosis, screening and management of Beckwith-Wiedemann syndrome: an international consensus statement. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2018 Apr [cited 4. 2. 2025.];14(4):229–49. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrendo.2017.166>. doi: 10.1038/nrendo.2017.166.
6. Duffy KA, Trout KL, Gunckle JM, Krantz SM, Morris J, Kalish JM. Results From the WAGR Syndrome Patient Registry: Characterization of WAGR Spectrum and Recommendations for Care Management. *Front Pediatr*. 2021; 9:733018. doi: 10.3389/fped.2021.733018.
7. Rabin KR, Whitlock JA. Malignancy in Children with Trisomy 21. *The oncologist* [Internet]. 2009 Feb [cited 4. 2. 2025.];14(2):164–73. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2761094/>. doi: 10.1634/theoncologist.2008-0217.
8. Kalish JM, Doros L, Helman LJ, et al. Surveillance Recommendations for Children with Overgrowth Syndromes and Predisposition to Wilms Tumors and Hepatoblastoma. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2017 Jul 2 [cited 4. 2. 2025.];23(13):e115–22. Available from: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0710>. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0710.
9. Kratz CP, Achatz MI, Brugières L, et al. Cancer Screening Recommendations for Individuals with Li-Fraumeni Syndrome. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2017 May 31 [cited 4. 2. 2025.];23(11):e38–45. Available from: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0408>. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0408.
10. Kamihara J, Bourdeaut F, Foulkes WD, et al. Retinoblastoma and Neuroblastoma Predisposition and Surveillance. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2017 Jul 1; 23(13):e98–106. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0652.
11. Walsh MF, Chang VY, Kohlmann WK, et al. Recommendations for Childhood Cancer Screening and Surveillance in DNA Repair Disorders. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 4. 2. 2025.]; 23(11):e23–31. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5697784/>. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0465.
12. Nalepa G, Clapp DW. Fanconi anaemia and cancer: an intricate relationship. *Nat Rev Cancer*. 2018 Mar;18(3):168–85. doi: 10.1038/nrc.2017.116.
13. Yuan J, He R, Alkhateeb HB. Sporadic and Familial Acute Myeloid Leukemia with CEBPA Mutations. *Curr Hematol Malig Rep* [Internet]. 2023 [cited 4. 2. 2025.];18(5):121–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10484814/>. doi: 10.1007/s11899-023-00699-3.

14. Villani A, Greer MLC, Kalish JM, et al. Recommendations for Cancer Surveillance in Individuals with RASopathies and Other Rare Genetic Conditions with Increased Cancer Risk. Clin Cancer Res [Internet]. 2017 Jun 14 [cited 4. 2. 2025.];23(12):e83-90. Available from: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0631>. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0631.
15. Achatz MI, Porter CC, Brugières L, et al. Cancer Screening Recommendations and Clinical Management of Inherited Gastrointestinal Cancer Syndromes in Childhood. Clin Cancer Res [Internet]. 2017 Jul 2 [cited 4. 2. 2025.];

23(13):e107-14. Available from: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0790>. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0790.

Adresa za dopisivanje:

dr. sc. **Tamara Žigman**, dr. med.

Zavod za medicinsku genetiku i bolesti metabolizma,

Klinika za pedijatriju

Klinički bolnički centar Zagreb

Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb

e-mail: tzigman1@kbc-zagreb.hr

SUMMARY

When does it make sense to perform genetic testing in children with malignant diseases?

Tamara Žigman, Ivan Tečer, Mihaela Bobić-Rasonja

Hereditary cancer syndromes are a group of inherited diseases caused by single-gene mutations that increase the risk of developing one or more malignancies during a lifetime, compared to the general population. Although most of these syndromes manifest in adulthood, some can occur during childhood. To date, over 100 hereditary cancer syndromes that manifest during childhood have been identified.

Early detection of a pediatric patient with hereditary cancer syndrome is crucial for both the child and their family, leading to a better prognosis, more beneficial treatment outcomes, and, when possible, the selection of targeted treatment. It also helps us establish an appropriate surveillance plan to detect multiple malignancies in a timely manner. Selective screening of family members provides important information about relatives who may be at risk, which is vital for appropriate genetic counseling.

Key words: NEOPLASMS; SYNDROME; GENETIC COUNSELING; GENETIC TESTING

Genetics and unexplained infant death: genomics in the courtroom

Todor Arsov^{1,2}, Carola G. Vinuesa¹

Sudden unexplained death in infancy, and particularly sudden infant death syndrome (SIDS), remains one of the most troubling situations in paediatrics, given that the etiology and pathophysiology of SIDS remain unknown in the majority of cases. Particularly troubling are the instances of repeated unexplained deaths in young children in one family: the lack of readily identifiable cause of death in the victims of SIDS sometimes raises the suspicion of multiple infanticide, triggering criminal proceedings and long prison sentences, most commonly involving the mother. The history of overturned convictions in the cases of the so-called “killer mums” remains troubling and raises concerns about many parents around the globe facing judicial persecution and incarcerations, on top of the personal and familial tragedies they had endured. Recent advances in genomic technologies allowed affordable access to genetic testing in various fields of medicine, leading to the identification of new genes and new pathogenic variants in known genes associated with various genetic conditions which are often rare and ultra-rare. Research in cardiac genetics provides clues about potential genetic causes of unexplained death in young children, and more importantly causes of recurrent death in one family: pathogenic variants in ion channels can lead to electrical instability of the heart as an underlying mechanism of fatal arrhythmias, where the fatal episode may be the first and only manifestation of the condition. This review summarises what is known about the more common genetic arrhythmias in the context of the recent judicial proceedings in the case of Ms. Kathleen Folbigg in Australia, concluding that thorough genetic investigation is absolutely warranted in criminal proceedings involving multiple unexplained deaths and complex undiagnosed conditions in one family.

Key words: SUDDEN INFANT DEATH; DEATH, SUDDEN; GENETICS; LONG QT SYNDROME; CALMODULIN

INTRODUCTION. UNEXPLAINED DEATH AT A YOUNG AGE AND GENETICS

There is no greater tragedy than that of the loss of a baby or a young child, particularly when there is no readily identifiable reason for the tragic

event. The medical science and literature have come up with various terms (and acronyms) to describe these situations - and most of these terms are phenomenological rather than aetiological, as very often the exact cause of death remains obscure. Sudden Infant Death Syndrome (SIDS, or cot death) is one of the best known

¹ Francis Crick Institute, London, UK

² Faculty of Medical Sciences, Goce Delcev University, ul. Ljuben Ivanov 25, Shtip 2000, Republic of North Macedonia

‘conditions’ which describes the sudden death of an otherwise healthy baby usually under the age of 1 year (and usually in the first 6 months), usually while asleep - where the cause of death remains unclear even after a full investigation, including a complete autopsy with ancillary testing, review of the clinical history and examination of the death scene (1-4). A more general term is Sudden Unexpected Infant Death (SUID) or Sudden Unexpected Death in Infancy (SUDI), describing a broader group of explained and unexplained infant deaths under the age of 1 year (5). Sudden unexpected death in childhood (SUDC) describes sudden death in a child over 12 months of age that is unexplained after thorough clinical investigation, autopsy, and examination of the death scene (4).

The aetiology of SIDS remains obscure, despite decades of intense research. The standing theoretical framework is the ‘triple risk hypothesis’ which suggests interplay between three factors: a critical developmental period in the homeostatic control (peaking at the age of 2-4 months), exposure to stressors (overheating, infection), and underlying susceptibilities (age, sex, race) (2). The incidence of SIDS is estimated at about 1 in 1000 live-born infants and is one of the leading causes of post-neonatal mortality in the developed world.

Genetic factors may play a role in SIDS (in the ‘underlying susceptibilities’ segment), and like in other complex conditions, it is likely that this contribution is polygenic. Importantly, also like in other complex conditions, monogenic forms of fatal diseases likely account for a certain proportion of the ‘otherwise healthy’ children whose death was attributed to SIDS, or to otherwise unexplained death at a young age. The literature suggests the involvement of cardiac, metabolic, and inflammatory genes, as well as genes associated with epilepsy, the serotonin pathway, and ultra-rare conditions (6). Indeed, the contribution of arrhythmogenic heart conditions such as Long-QT syndrome (LQTS), most commonly caused by pathogenic variants in ion channel coding genes *KCNQ1*, *KCNH2*, and *SCN5A* has been speculated and demonstrated over the last two decades. For example, Ackerman et al. showed that pathogenic variants in *SCN5A* may account

for about 2 % of cases (2/93) with SIDS, in a population-based cohort of SIDS cases – as proof of the idea that a proportion of cases of SIDS and/or other forms of unexplained death at a young age of ‘otherwise healthy’ may be due to monogenic conditions, inherited in a Mendelian fashion, mostly autosomal dominant – and with a high recurrence rate (7)!

Of note, inherited cardiac arrhythmias, such as LQTS may manifest with the fatal outcome as the first and only clinical manifestation of the condition, without prior warning in an otherwise healthy person (8). Short of recording an ECG at the moment of the arrhythmic episode (not always possible, particularly if the episode is fatal) – the underlying genetic condition remains undiagnosed given the autopsy morphological findings are usually of a normal heart. Absent genetic testing, the cause of death would remain unclear.

The genetic contribution to SIDS remains an open area of research and there is a growing body of evidence linking cardiac, metabolic, epilepsy as well as inflammation and serotonin pathway genes in the list of potential contributors.

Recent studies using genomic testing provide further insights into the genetic architecture of unexplained death and proof that a percentage of cases of SIDS are indeed fatal outcomes of undiagnosed rare conditions, namely up to 1 in 3 SIDS cases may be explained by familial or genetic diseases such as channelopathies, cardiomyopathies or metabolic conditions (which are not detected by standard forensic procedures) (6). For example, Neubauer et al. investigated a cohort of 161 cases with SIDS of European background with whole exome sequencing focused on 192 genes and found potentially causative variants in about 20 % of SIDS cases – 9 % of channelopathies, 7 % of cardiomyopathies and 1 % of metabolic conditions (9). The same authors also reported on results from exome analysis focusing on 365 genes related to epilepsy in unexplained death (155 SIDS and 45 SUD cases), finding pathogenic and likely pathogenic heterozygous variants in 12,2 % (19/155) of SIDS cases and 13,3 % (6/45) of SUD cases (10). Similarly, Cazzato et al. performed custom panel testing containing sudden cardiac death genes and found likely pathogenic or pathogenic variants in about 5 % of the cases (11). Koh

et al. analysed the genetic determinants of sudden unexpected death in paediatrics (SUDP) in 352 children, mostly with fatal outcomes under the age of 1 year, and found likely contributory variants in about 11 % of cases (12). Of note, the same group published findings on the contribution of chromosomal anomalies in their SUDP cohort and found pathogenic copy number variants in 4,3 % of cases (5/116) and variants of uncertain significance harbouring pathogenic interpretation in another 7,8 % of cases (9/116), for a total of possible chromosomal contribution in SUDP of about 10 % (13).

THE PROBLEM OF RECURRENT INFANT DEATH IN ONE FAMILY

Sir Roy Meadow is a retired British paediatrician who was involved as an expert witness in several criminal cases of alleged infanticide, including the trial of Sally Clark, an English solicitor accused and convicted of murdering her two sons Christopher and Harry. His book 'ABC of Child Abuse' contained a statement that 'in one family one SIDS is a tragedy, two is suspicious and three is murder until proved otherwise' – and this statement later became known as the 'Meadow law'. In the Trial of Sally Clark an erroneous calculation of the likelihood of two occurrences of SIDS in one family yielded a figure of 1 in 73 million for two SIDS cases in one family (square of 8500, the incidence of SIDS in a middle-income non-smoking family in the UK 1 in 8500) – or once every 100 years in the UK (14, 15). This led to the conviction of Sally Clark in 1999. On appeal, she was released in 2003, but her life ended tragically from alcohol intoxication in 2007.

The two sources of the error as judged by the medical statisticians in the Sally Clark case were the application of the "prosecutor's fallacy" and assuming the two events are statistically independent (14, 16). The cases of recurrent sudden and unexpected death in a young child in one family is indeed a rare occurrence, but the rarity of the occurrence can't be taken as proof of guilt (prosecutor's fallacy), given that the cases of multiple infanticides in one family are also exceedingly rare (and on balance perhaps rarer!).

The assumption that both events are independent is the second source of error, given the increased prevalence of SIDS in siblings of index cases with SIDS. Recent literature provides estimates of the rates of recurrence of unexplained death in young children, defined as SIDS or SUDI. As expected from the theoretical principles of formal genetics (empirical risk), and as shown for many other conditions with complex genetics and complex inheritance, the recurrence rate of unexplained death in young children in a relative of an index case is higher than the incidence of unexplained death in young children in the general population. A recent analysis of the incidence of SIDS in siblings of victims of SIDS in a population-based study from Denmark demonstrated a 4 fold increase in the incidence of SIDS in siblings of SIDS victims, consistent with older studies (14, 17). Another UK study analysed data from the CONI (Care of Next Infant Program) registry and reported that the SUDI rate for infants born after one SUDI is 3.93 per 1000 live births, and the rate for the subgroup of unexplained death was 2.27 per 100 live births! Of note, this study reported 3 families (out of 6608) with 3 cases of SUDI, of which in at least one family the three SUDI cases were classified as SIDS (18).

Unlike conditions with complex inheritance where genetic counseling about the recurrence risks relies on these empirical risks, monogenic conditions are inherited in a predictable Mendelian way and recurrences can be calculated more accurately. Most of the monogenic cardiac contributors to SIDS are inherited in an autosomal dominant manner, and the recurrence risks may be much higher: 1 in 4 for two, 1 in 8 for three, and 1 in 16 for four affected children in one family with one affected or non-penetrant carrier parent.

GENETICS OF THE ELECTRICAL INSTABILITY OF THE HEART

The lowering costs of genomic testing using next-generation sequencing (gene panels, whole exome, or whole genome testing) affords genetic testing for an increasing number of patients with suspected genetic conditions who benefit from receiving a genetic diagnosis. The benefits are multiple and depend on the specific clinical sce-

Table 1. Long QT Syndrome: Scoring System for Clinical Diagnosis

FINDING		Points
ECG	QTc ≥ 480 ms	3.5
	QTc 460-479 ms	2
	QTc 450-459 ms (in males)	1
	≥ 480 ms during 4th minute of recovery from exercise stress test	1
	Torsade de pointes	2
	T wave alternans	1
	Notched T wave in 3 leads	1
	Low heart rate for age	0.5
	Syncope with stress	2
	Syncope without stress	1
Clinical history	Congenital deafness	0.5
	Family member(s) with clinical or molecular diagnosis of LQTS	1
Family history	Unexplained sudden cardiac death at age	0.5
	Genetic test Pathogenic variant in a gene known to cause LQTS	3.5
INTERPRETATION		
		≤ 1.0 = low probability of LQTS; 1.5-3.0 = intermediate probability of LQTS; >3.0 = clinical diagnosis of LQTS

nario, but include offering targeted treatment options, and introducing individual and reproductive risk management – for the proband and their family members. Nowhere is this more true than in the cases of cancer and cardiovascular genetics given the availability of treatment and risk management options – in the case of cardiac genetics this includes various medications and/or implantable cardiac defibrillators/pacemakers. This knowledge is installed in the recommendations of the ACMG for reporting the secondary findings in the analysis of the whole exome or genome – the current list includes 81 genes related to cancer and cardiovascular conditions (19).

Long QT Syndrome (LQTS)

The main electrophysiological feature of LQTS is the prolongation of the QT interval, predisposing to potentially life-threatening arrhythmic episodes, particularly in young individuals. The Schwartz scoring system adopted by the European Society of Cardiology incorporates ECG findings, clinical history, family history, and genetic findings to establish the clinical diagnosis, intermediate probability, or low probability of LQTS, as summarised in Table 1 (20, 21). The prevalence of this condition has been estimated to be 1 in 2000-2500, but may be higher (22).

Cardiac events such as palpitations, syncope, cardiac arrest, or sudden death occur from infancy to adulthood, most commonly in the period preteen to 20-ies, rarely after 40 (usually with the use of medications that prolong QT interval). The symptoms can be misdiagnosed as epileptic fits. The diagnosis relies on careful clinical examination, particular ECG studies, and family history, including ECG studies in family members. Genetic testing may confirm the clinical diagnosis in up to 80 % of cases with LQTS (20, 22).

Genetic studies in LQTS have identified 10-15 genes associated with LQTS, with 3 genes coding ion channel subunits accounting for more than 80 % of genotype-positive cases (22): *KCNQ1* (30-35 % of cases), *KCNH2* (25-30 %) and gain of function *SCN5A* (5-10 % of cases). The list of genes with definitive validity classification (adequate level of evidence of association with the inherited LQTS phenotype), causing less than 1 % of LQTS each also includes gain of function *CACNA1C*, *CALM1*, *CALM2*, *CALM3*, *CAV3*, *KCNJ2* and *TRDN* (20). About 25 % of cases with LQTS do not have an identifiable pathogenic variant in one of these genes (23). Most of the cases with LQTS are inherited from an affected or healthy non-penetrant parent in an autosomal dominant Mendelian fashion and some cases are de novo or result

from rare cases of gonadal (with or without somatic) mosaicism. The clinical expressivity of LQTS is variable and the penetrance of both ECG features and symptoms is reduced and gene-dependent. Generally, it is estimated that about 25 % of cases with identifiable LQTS pathogenic variants have normal QTc on baseline ECG (20, 24).

Asymptomatic individuals are treated with beta-blockers, including individuals with pathogenic LQTS variant and normal QTc interval, however, implantable cardioverter-defibrillator (ICD) is not indicated for asymptomatic individuals, except ones considered very high risk. All symptomatic individuals should be treated with beta-blockers, with a preference for longer-acting nadolol. Patients resuscitated from a cardiac arrest are recommended ICDs, given the high recurrence rate. Other treatment options include left ventricular denervation, for example in patients who refuse an ICD and where beta blockers are contraindicated, not tolerated, or not effective. Patients with LQTS3 due to specific pathogenic variants in *SCN5A* and QTc > 500 msec may benefit from adding sodium channel blockers (such as mexiletine). Drugs that prolong the QT interval should be avoided. Patient education and genetic counseling are essential (20, 25, 26).

Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (CPVT)

CPVT is a rare inherited channelopathy affecting about 1 in 5000-10000 people. It is characterized clinically by episodes of syncope prompted by exercise/exertion or emotion. Syncope is the first presentation in about half of the patients, and patients may also experience dyspnea, chest pain, dizziness, palpitations, and cardiac arrest. Sudden death may be the first and only symptom. The usual age of onset of symptoms is around age 7-12 years, with a second peak at about 40 years (26 - 29).

The underlying arrhythmia is fast ventricular tachycardia that can resolve spontaneously or deteriorate into ventricular fibrillation resulting in sudden death in a setting of a structurally normal heart. About 30 % of patients with CPVT will have at least one cardiac arrest and sudden unexpected death may be the first and only manifestation of this highly malignant genetic arrhythmia (27,

30). Of note, while the outcome of CPVT may be a fatal arrhythmia, patients are clinically well and have normal heart ultrasound, coronary angiography, and ECG findings between the episodes of arrhythmia, making the diagnosis difficult (27, 28, 30). The diagnosis relies on the careful personal history of emotion or exercise-induced syncope (or epilepsy!), family history of sudden death, clinical examination, and stress electrophysiology studies and is established in patients with a structurally normal heart, normal resting ECG, and exercise- or emotion-provoked bidirectional or polymorphic ventricular tachycardia, or in individuals with a monoallelic pathogenic variant in *RYR2*, *CALM1*, *CALM2*, *CALM3*, *CASQ2*, or *KCNJ2* or bi-allelic pathogenic variants in *CASQ2*, *TECRL*, or *TRDN*. Genetic testing can identify family members at risk (27, 30).

Most patients with CPVT and positive genetic findings have a pathogenic variant in the *RYR2* gene (60-70 %). The list of other genes less frequently (<1 % cases) involved in CPVT inherited in autosomal dominant fashion include *CALM1*, *CALM2*, *CALM3*, *KCNJ2*, and *CASQ2* and inherited in autosomal recessive way *CASQ2* (about 5 % of cases), *TECRL*, *TRDN*. About 25 % of patients clinically diagnosed with CPVT have no identifiable pathogenic variant in one of the listed genes (28). CPVT is a condition with variable clinical expressivity and the penetrance for the *RYR2*-related CPVT has been estimated to be 83 % (27). The percentage of probands with de novo variants in *RYR2* is estimated to be about 30-40 % (27, 31).

The recommended treatment of manifestations includes beta blockers (nadolol is considered the most effective), with the inclusion of additional anti-arrhythmic drugs for complex arrhythmia control and implantable cardioverter defibrillator for patients with inadequate arrhythmia control with medications. Left cardiac sympathetic denervation is also an option in CPVT. Competitive sports and intense exercise are contraindicated and digitalis should be avoided (27).

Idiopathic ventricular fibrillation (IVF)

A common cause of sudden (unexpected) death in young adults, IVF is considered in patients who survive an episode of ventricular fibrillation, and

have an otherwise structurally and electrically normal heart (32, 33). Expert consensus statements define IVF as a resuscitated VF victim in whom known cardiac, respiratory, metabolic, and toxicological causes have been excluded (The Heart Rhythm Society/European Heart Rhythm Association/Asia Pacific Heart Rhythm Society on inherited primary arrhythmia syndromes) (26, 32, 34). It is considered that 14–23 % of sudden cardiac death in young adults is due to IVF (35).

‘WHEN PIGLETS FLY’: INFANTICIDE OR AN INHERITED HEART CONDITION? A CASE STUDY ON THE ‘FOLBIGG’ GENE

Kathleen Folbigg is a 57-year-old Australian woman, a mother of 4 children who was convicted in 2003 of multiple infanticides of her children Caleb, Patrick, Sarah, and Laura over a period of 10 years and incarcerated for a 40-year jail sentence with a non-parole period of 30 years and labeled ‘Australia’s worst female serial killer’ (36–38). In the 2003 trial there was no direct evidence presented supporting violent or criminal deaths – all children were found dead while asleep in their cots by their mother, no murder weapon was recovered in any instance, there was no admission of guilt, no eye-witnesses of the event, no signs of violence in the autopsy reports (in 3 out of 4 cases the determined cause of death was SIDS), apart from questionably inculpatory extracts from Ms. Folbigg’s diary entries, subjected to interpretations out of context, by non-experts and the lay media. At the time, a psychiatric assessment did not determine a psychiatric condition in Ms. Folbigg. Despite the attempts of the defense to argue natural causes of death as an alternative explanation of the tragic events – the trial found Ms. Folbigg guilty, in support of the closing argumentation of the prosecutor grounded in the “Meadow law” (37–41):

“Caleb may have died from a floppy larynx or SIDS. Patrick may have had an ALTE, which was a first epileptic attack or encephalitis. His death may have been caused by an epileptic attack, an epileptic seizure. Sarah may have had a displaced uvula or SIDS. Laura may have died of myocardi-

tis. Well, yes, ladies and gentlemen, I can’t disprove any of that, but one day some piglets might be born from a sow, and the piglets might come out of the sow with wings on their back, and the next morning Farmer Joe might look out the kitchen window and see these piglets flying out of his farm. I can’t disprove that either. I can’t disprove that one day some piglets might be born with wings and that they might fly. Is that a reasonable doubt? No. Is the hypothesis that the defense advances a reasonable doubt? No. Why not? Because if you look at what they are suggesting, not in isolation, but in totality: There has never ever been before in the history of medicine that our experts have been able to find any case like this. It is preposterous. It is not a reasonable doubt. It is a fantasy, and of course the Crown does not have to disprove a fanciful idea.” (39).

Twenty years later, it fell on a group of geneticists from the Australian National University to prove this “fanciful idea” that sudden unexplained death (and to that end, complex and difficult to diagnose rare genetic disorders) in multiple children in one family is indeed possible, and actually quite possible in the case of an underlying genetic condition, given the recurrence rates of 1 in 2 for autosomal dominant and 1 in 4 for autosomal recessive conditions (38, 40). This complex journey involved a tense interaction of scientists with the New South Wales Australian judicial system – two legal inquiries into Folbigg’s convictions, visits to two different prisons, hours spent in genetic analyses and courtrooms, assembling an international network of experts in the biochemistry and physiology of calmodulin and clinical experts on “calmodulinopathies”, an emerging group rare cardiac conditions, in order to prove that the CALM2 gene variant G114R inherited by Sarah and Laura from their mother was indeed pathogenic and a likely cause of the ‘unexplained’ death they suffered (38).

Calmodulinopathy refers to a group of conditions that manifest with cardiac arrhythmias especially in young individuals due to pathogenic variants in one of the three CALM genes (CALM1, CALM2, and CALM3), and may cause catastrophic arrhythmia resulting in sudden death (42, 43). The three CALM genes code for the identical protein – calmodulin. This protein consists of 149 amino

acid residues and serves as a calcium binding modulator that binds/interacts with a number of enzymes and ion channels, such as the calcium-dependent inactivation (CDI) of cell membrane calcium channel CaV1.2 associated with LQTS and sarcoplasmic reticulum (SR) calcium release channel, RyR2 associated with CPVT. Pathogenic calmodulin variants have been associated with both LQTS and CPVT (42-44). A 2023 review of the international calmodulinopathy registry ICalmR reported on a cohort of 140 subjects (97 index cases and 43 family members), with a median age of 10.8 years. The two most prevalent electrophysiology syndromes associated with pathogenic variants were LQTS (53 % of cases) and CPVT (26 % of cases), IVF phenotype (5 % of cases), and 20 patients manifested primary neurological manifestations unrelated to post-anoxic sequelae. Interestingly, the registry reported an overlapping LQTS/CPVT phenotype in 7 %, and uncertain diagnosis in 8 % of ICalmR individuals. Also, the authors reported on the changing phenotype of calmodulinopathy, from more to less severe – for example, at an earlier time point in 2019 with a smaller number of cases, 85 % of the individuals in the registry had a cardiac event and 27 % had sudden cardiac death, while in 2023 61 % of individuals has a cardiac event and 9 % had sudden cardiac death. In addition, about 30 % of cases had cardiomyopathy or a congenital heart defect (42-44). Further to the growing body of evidence associating pathogenic CALM1, CALM2 and CALM3 gene variants with cardiac phenotypes LQTS (CALM1 LQTS14, CALM2 LQTS15 and CALM3 LQTS16) and CPVT, the American College of Medical Genetics included the CALM genes in the ACMG SF v3.2 list of reportable secondary findings in the context of whole exome or genome testing (19).

Following two Inquiries in 2018/2019 and 2022/2023 and after having spent 20 years in jail, Kathleen Folbigg was pardoned in July 2023 and in December 2023 her convictions were overturned (37, 45).

It is important to highlight some of the challenges in the variant interpretation in general, and particularly in the context of 20-year-old cases with limited clinical information and the evolving understanding of the genetics and clinical features

of calmodulinopathies – from the “tip of the iceberg phenotype” ascertained from the first published cases (all de novo, severe and lethal), to the “iceberg phenotype”, with an increasing number of cases in the international registry and the literature, including less severe, inherited and non-penetrant cases (8, 38).

CONCLUSIONS

Recent developments in human genetics and genomics have brought a new understanding of the genetic architecture of human disease – including sudden and unexplained death, which calls for revising clinical and forensic practices to include comprehensive genetic testing in cases of fatal or survived cardiac arrest / unexplained death. Sudden death may be the first and only manifestation of an underlying genetic arrhythmia, or if symptoms exist they may be misdiagnosed as epilepsy. The benefits of a positive genetic diagnosis include managing the personal and reproductive risk for the index case, but also identification of family members at risk. More extensive genetic testing using gene panels, whole exome, and whole genome testing continuously widens the number of cases with monogenic cardiac conditions and identifies both new genes involved in sudden unexplained death, as well as new clinical presentations of pathogenic variants in genes already associated with specific cardiac clinical presentations – which calls for a move to a gene-based, rather than electrophysiology syndrome/phenotype based disease classification. Scientific approach to unsolved criminal cases, particularly where multiple children are affected or diseased may afford a diagnosis or plausible alternative explanation for natural, as opposed to criminal cause of death usually implicating the mother. Cases such as Kathleen Folbigg’s highlight the importance of building sophisticated criminal justice systems that allow for a fair and criminal review process sensitive to science, particularly in the cases where the defendant or convicted maintains their innocence, as Stephen J Watkins concludes in his article *Conviction by mathematical error?* : “When errors occur we expect them to be admitted, learnt from, and corrected. Should clinical governance extend to the courtroom? Expert witnesses can hold a substan-

tial part of defendants' lives in their hands. Defendants deserve the same protection as patients." (14).

REFERENCES

1. National Institutes of Health (NIH). What is SIDS? Available from: <https://safetosleep.nichd.nih.gov/about/sids-definition>. Accessed Jan 2025.
2. Goldwater PN. The science (or nonscience) of research into sudden infant death syndrome (SIDS). *Front Pediatr*. 2022;10:865051. doi: 10.3389/fped.2022.865051.
3. National Health Service (NHS). Sudden infant death syndrome (SIDS). Available from: <https://www.nhs.uk/conditions/sudden-infant-death-syndrome-sids/>. Accessed Jan 2025.
4. National Organization for Rare Disorders (NORD). Sudden unexplained death in childhood. Available from: <https://rarediseases.org/rare-diseases/sudden-unexplained-death-in-childhood/>. Accessed Jan 2025.
5. Parks SE, Erck Lambert AB, Hauck FR, Cottengim CR, Faulkner M, Shapiro-Mendoza CK. Explaining sudden unexpected infant deaths, 2011-2017. *Pediatrics*. 2021; 147(5):e2020020076. doi: 10.1542/peds.2020-020076.
6. Keywan C, Poduri AH, Goldstein RD, Holm IA. Genetic factors underlying sudden infant death syndrome. *Appl Clin Genet*. 2021;14:61-76. doi: 10.2147/TACG.S269305.
7. Ackerman MJ, Siu BL, Sturner WQ, et al. Postmortem molecular analysis of SCN5A defects in sudden infant death syndrome. *JAMA*. 2001;286(18):2264-9. doi: 10.1001/jama.286.18.2264.
8. Schwartz PJ, Crotti L, Nyegaard M, Overgaard MT. Calmodulin, sudden death, and the Folbigg case: genes in court. *Eur Heart J*. 2024;45(20):1801-3. doi: 10.1093/eurheartj/ehae144.
9. Neubauer J, Lecca MR, Russo G, et al. Post-mortem whole-exome analysis in a large sudden infant death syndrome cohort with a focus on cardiovascular and metabolic genetic diseases. *Eur J Hum Genet*. 2017;25(4):404-9. doi: 10.1038/ejhg.2016.185.
10. Buerki SE, Haas C, Neubauer J. Exome analysis focusing on epilepsy-related genes in children and adults with sudden unexplained death. *Seizure*. 2023;113:66-75. doi: 10.1016/j.seizure.2023.04.021.
11. Cazzato F, Coll M, Grassi S, et al. Investigating cardiac genetic background in sudden infant death syndrome (SIDS). *Int J Legal Med*. 2024;138(6):2229-37. doi: 10.1007/s00414-023-03058-4.
12. Koh HY, Haghighi A, Keywan C, et al. Genetic determinants of sudden unexpected death in pediatrics. *Genet Med*. 2022;24(4):839-50. doi:10.1016/j.gim.2022.01.001.
13. Brownstein CA, Douard E, Haynes RL, et al. Copy number variation and structural genomic findings in 116 cases of sudden unexplained death between 1 and 28 months of age. *Adv Genet (Hoboken)*. 2023;4(1):2200012. doi: 10.1002/ggn2.2200012.
14. Watkins SJ. Conviction by mathematical error? Doctors and lawyers should get probability theory right. *BMJ*. 2000;320(7226):2-3. doi: 10.1136/bmj.320.7226.2.
15. Byard RW. Unexpected infant death: lessons from the Sally Clark case. *Med J Aust*. 2004;181(1):52-4. doi: 10.5694/j.1326-5377.2004.tb06136.x.
16. Dyer C. Professor Roy Meadow struck off. *BMJ*. 2005; 331(7510):177. doi: 10.1136/bmj.331.7510.177.
17. Glinge C, Rossetti S, Oestergaard LB, et al. Risk of sudden infant death syndrome among siblings of children who died of sudden infant death syndrome in Denmark. *JAMA Netw Open*. 2023;6(1):e2252724. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.52724.
18. Garstang JJ, Campbell MJ, Cohen MC, et al. Recurrent sudden unexpected death in infancy: a case series of sibling deaths. *Arch Dis Child*. 2020;105(10):945-50. doi: 10.1136/archdischild-2019-318155.
19. Miller DT, Lee K, Abul-Husn NS, et al. ACMG SF v3.2 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med*. 2023;25(8):100866. doi: 10.1016/j.gim.2023.05.008.
20. Groffen AJ, Bikker H, Christiaans I. Long QT syndrome overview. 2003 Feb 20 [updated 2024 Mar 21]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1129/>
21. Schwartz PJ, Crotti L. QTc behavior during exercise and genetic testing for the long-QT syndrome. *Circulation*. 2011;124(20):2181-4. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.061531.
22. Zhu W, Bian X, Lv J. From genes to clinical management: a comprehensive review of long QT syndrome pathogenesis and treatment. *Heart Rhythm O2*. 2024;5(8):573-86. doi: 10.1016/j.hroo.2024.02.007.
23. Ingles J, Semsarian C. Time to rethink the genetic architecture of long QT syndrome. *Circulation*. 2020;141(6):440-3. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044415.
24. Kutyifa V, Daimee UA, McNitt S, et al. Clinical aspects of the three major genetic forms of long QT syndrome (LQT1, LQT2, LQT3). *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2018;23(3):e12537. doi: 10.1111/anec.12537.
25. Galic E, Beslic P, Kilic P, et al. Congenital long QT syndrome: a systematic review. *Acta Clin Croat*. 2021;60(4):739-48. doi: 10.20471/acc.2021.60.04.14.
26. Zeppenfeld K, Tfelt-Hansen J, de Riva M, et al. 2022 ESC guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac

- death. *Eur Heart J*. 2022;43(40):3997-4126. doi: 10.1093/eurheartj/ehac262.
27. Napolitano C, Mazzanti A, Bloise R, Priori GS. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. 2004 Oct 14 [updated 2022 Jun 23]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1289/>
28. Priori SG, Mazzanti A, Santiago DJ, Kukavica D, Trancuccio A, Kovacic JC. Precision medicine in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: JACC Focus Seminar 5/5. *J Am Coll Cardiol*. 2021;77(20):2592-612. doi: 10.1016/j.jacc.2021.03.321.
29. Abbas M, Miles C, Behr E. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Arrhythm Electrophysiol Rev*. 2022;11:e20. doi: 10.15420/aer.2022.08.
30. Roston TM, Yuchi Z, Kannankeril PJ, et al. The clinical and genetic spectrum of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: findings from an international multi-centre registry. *Europace*. 2018;20(3):541-7. doi: 10.1093/eurpace/eux332.
31. van der Werf C, Nederend I, Hofman N, et al. Familial evaluation in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: disease penetrance and expression in cardiac ryanodine receptor mutation-carrying relatives. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2012;5(4):748-56. doi: 10.1161/CIRCEP.112.972620.
32. Al-Khatib SM, Stevenson WG, Ackerman MJ, et al. 2017 AHA/ACC/HRS guideline for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(14):e91-e220. doi: 10.1016/j.jacc.2018.10.061.
33. Verheul LM, van der Ree MH, Groeneveld SA, et al. The genetic basis of apparently idiopathic ventricular fibrillation: a retrospective overview. *Europace*. 2023;25(11). doi: 10.1093/eurpace/euad250.
34. Priori SG, Blomstrom-Lundqvist C. 2015 European Society of Cardiology guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death summarized by co-chairs. *Eur Heart J*. 2015;36(41):2757-9. doi: 10.1093/eurheartj/ehv445.
35. Haissaguerre M, Duchateau J, Dubois R, et al. Idiopathic ventricular fibrillation: role of Purkinje system and microstructural myocardial abnormalities. *JACC Clin Electrophysiol*. 2020;6(6):591-608. doi: 10.1016/j.jacep.2020.03.004.
36. Beazley J. Wrongfully jailed for 20 years, Australia's 'most hated woman' likely to receive record compensation. *The Guardian* [Internet]. 2023 Dec 14 [cited 2025 Jan]. Available from: <https://www.theguardian.com/australia-news/2023/dec/14/wrongfully-jailed-for-20-years-australias-most-hated-woman-likely-to-receive-record-compensation>
37. Wikipedia contributors. Kathleen Folbigg. Wikipedia [Internet]. 2024 [cited 2025 Jan]. Available from: https://en.wikipedia.org/wiki/Kathleen_Folbigg
38. Brohus M, Arsov T, Wallace DA, et al. Infanticide vs. inherited cardiac arrhythmias. *Europace*. 2021;23(3):441-50. doi: 10.1093/eurpace/euaa392.
39. Rego R. A critical analysis of post-conviction review in New South Wales, Australia. *The Wrongful Conviction Law Rev*. 2021;2(3):305-47. doi: 10.29173/wclawr66.
40. Phillips N. She was convicted of killing her four children. Could a gene mutation set her free? *Nature (News Feature)*. 2022 Nov 9. doi: 10.1038/d41586-022-03474-2.
41. Ritchie H. Kathleen Folbigg: Misogyny helped jail her, science freed her. *BBC News* [Internet]. 2023 Jun 8 [cited 2025 Jan]. Available from: <https://www.bbc.com/news/world-australia-65830799>
42. Nyegaard M, Overgaard MT, Sondergaard MT, et al. Mutations in calmodulin cause ventricular tachycardia and sudden cardiac death. *Am J Hum Genet*. 2012;91(4):703-12. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.08.015.
43. Crotti L, Spazzolini C, Tester DJ, et al. Calmodulin mutations and life-threatening cardiac arrhythmias: insights from the International Calmodulinopathy Registry. *Eur Heart J*. 2019;40(35):2964-75. doi: 10.1093/eurheartj/ehz311.
44. Crotti L, Spazzolini C, Nyegaard M, et al. Clinical presentation of calmodulin mutations: the International Calmodulinopathy Registry. *Eur Heart J*. 2023;44(35):3357-70. doi: 10.1093/eurheartj/ehad351.
45. Timms P, Roberts M, Wakatama G. Kathleen Folbigg has convictions for killing her four children overturned. *ABC News* [Internet]. 2023 Dec 14 [cited 2025 Jan]. Available from: <https://www.abc.net.au/news/2023-12-14/kathleen-folbigg-court-of-criminal-appeal-charges/103224344>

Correspondence to:

Todor Arsov, MD, PhD
Faculty of Medical Sciences
Goce Delcev University
ul. Ljuben Ivanov 25, Shtip 2000
Republic of North Macedonia
e-mail: todor.arsov@crick.ac.uk

SAŽETAK

Genetika i neobjašnjena smrt dojenčadi: genomika u sudnici

Todor Arsov, Carola G. Vinuesa

Iznenadna neobjašnjiva smrt u dojenčadi, a posebno sindrom iznenadne smrti dojenčadi (SIDS, engl. sudden infant death syndrome), ostaje jedna od najzabrinjavajućih situacija u pedijatriji, s obzirom na to da etiologija i patofiziologija SIDS-a u većini slučajeva ostaju nepoznate. Posebno su zabrinjavajući slučajevi opetovanih neobjašnjivih smrti male djece u jednoj obitelji: nedostatak lako utvrdivog uzroka smrti kod žrtava SIDS-a ponekad pobuđuje sumnju na višestruko čedomorstvo, što pokreće kaznene postupke i duge zatvorske kazne, najčešće uključujući majku. Poništenih presuda u slučajevima takozvanih "majki ubojica" i dalje je zabrinjavajuća i izaziva zabrinutost oko mnogih roditelja diljem svijeta koji se suočavaju sa sudskim progonom i zatvaranjem, povrh osobnih i obiteljskih tragedija koje su proživjeli. Nedavni napredak u genomske tehnologijama omogućio je pristupačan pristup genetskom testiranju u raznim područjima medicine, što je dovelo do identifikacije novih gena i novih patogenih varijanti u poznatim genima povezanim s različitim genetskim stanjima koja su često rijetka i ultrarijetka. Istraživanja u kardiološkoj genetici pružaju naznake o potencijalnim genetskim uzrocima neobjašnjive smrti u male djece, i što je još važnije, uzrocima ponovljene smrti u jednoj obitelji: patogene varijante u ionskim kanalima mogu dovesti do električne nestabilnosti srca kao temeljnog mehanizma fatalnih aritmija, gdje smrtonosna epizoda može biti prva i jedina manifestacija stanja. Ovaj pregled sažima ono što je poznato o češćim genetskim aritmijama u kontekstu nedavnog sudskog postupka u slučaju gđe Kathleen Folbigg u Australiji, zaključujući da je temeljita genetska istraga apsolutno opravdana u kaznenim postupcima koji uključuju višestruke neobjašnjive smrti i složena nedijagnosticirana stanja u jednoj obitelji.

Ključne riječi: SINDROM IZNENADNE DOJENAČKE SMRTI; SMRT, IZNENADNA; GENETIKA; SINDROM DUGOG QT INTERVALA; KALMODULIN

Genetička etiologija oštećenja sluha u hrvatskoj kod osoba negativnih na varijante u GJB2

Ivona Sansović^{1,2,3,4}, Ana-Maria Meašić^{1,3,4}, Adriana Bobinec^{1,3,4},
Morana Mikloš^{1,3,4}, Ljubica Odak^{1,3,4}, Katarina Vulin^{1,3,4}

Cilj: izvijestiti o spektru i učestalosti klinički važnih varijanti otkrivenih u 66 GJB2-negativna bolesnika s nesindromskim i 39 bolesnika sa sindromskim oštećenjem sluha kojima je genetičko testiranje napravljeno u Klinici za dječje bolesti Zagreb u razdoblju od travnja 2019. do prosinca 2024.

Metode: Metoda višestrukog umnažanja vezanih sonda korištena je za analizu varijanti broja kopija u genima STRC i OTOA kod 49 bolesnika s nesindromskim oštećenjem sluha. Sekvenciranje kliničkog egzoma provedeno je u bolesnika negativnih na bialelne varijante GJB2, GJB6, OTOA i STRC te bolesnika sa sindromskim oštećenjem sluha, ukupno njih 60.

Rezultati: bialelne varijante u genima STRC i OTOA nisu otkrivene vjerojatno zbog male ispitne grupe i ograničenja primijenjenih metoda. Analizom kliničkog egzoma u osam ispitanika s nesindromskim oštećenjem sluha otkrivena su tri autosomno dominantna oblika: DFNA8/12, DFNA11 i DFNA2A i tri autosomno recesivna oblika: DFNB23/Usherov sindrom tip 1F, DFNB8/10 i DFNB3. U 29 ispitanika sa sindromskim oštećenjem sluha otkriveno je 35 različitih varijanti u 21 genu, od kojih su dvije u genima SIX1 i CHD7 novoopisane. Nađeno je 19 različitih sindroma povezanih s oštećenjem sluha. 27.5 % (8/29) pozitivnih bolesnika sa sindromskim oštećenjem sluha imalo je Usherov sindrom tip 2A s varijantom c.11864G>A nađenoj u 62,5 % (5/8) bolesnika.

Zaključak: Visoka zastupljenost varijante c.11864G>A u našoj populaciji vjerojatno je posljedica učinka osnivača. S obzirom na vrlo heterogenu etiologiju oštećenja sluha, dijagnostika mu je vrlo složena i izazovna pogotovo u složenim sindromskim oblicima gdje promjene u različitim genima u istog bolesnika mogu doprinijeti oštećenju sluha odnosno njegovim ostalim kliničkim obilježjima.

Ključne riječi: GUBITAK SLUHA; SEKVENCIRANJE EGZOMA; MULTIPLEKSNA LANČANA REAKCIJA POLIMERAZE; VARIJACIJE BROJA KOPIJE DNK

¹ Klinika za dječje bolesti Zagreb, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za medicinsku i laboratorijsku genetiku, endokrinologiju i diabetologiju s dnevnom bolnicom, Klaićeva 16, 10000 Zagreb, Hrvatska

² Zdravstveno veleučilište Zagreb, Mlinarska cesta 38, 10000 Zagreb, Hrvatska

³ Znanstveni centar izvrsnosti za reproduktivnu i regenerativnu medicinu, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata 2, Zagreb, Hrvatska

⁴ član ERN ITHACA mreže

UVOD

U oblikovanje i funkcioniranje slušnog aparata uključeno je oko 1000 gena stoga je etiologija oštećenja sluha (OS) vrlo heterogena. Smatra se da su genetički čimbenici uzrokom 60 % kongenitalnog OS, od toga nesindromsko oštećenje sluha (NOS) čini 70 % slučajeva, a sindromsko 30 % (1, 2). Sindromsko OS (SOS) je udruženo s malformacijama vanjskog uha te strukturnim i funkcijskim malformacijama drugih organskih sustava dok je NOS izolirani oblik koji može biti udružen s abnormalnostima srednjeg i unutarnjeg uha (2). NOS je u pravilu zamjedbeno, a nasljeđuje se u ~80 % slučajeva autosomno recesivno (AR), u ~15 % autosomno dominantno (AD), ~1 % pripada X - vezanom te ~1 % mitohondrijskom tipu nasljeđivanja. Nesindromsko kongenitalno OS karakterizira ekstremna genetička heterogenost. Do danas je poznato 157 gena povezanih s NOS, od kojih su 64 povezana s AD lokusima oznake DFNA, 88 s AR lokusima oznake DFNB, sedam ih se nasljeđuje spolno vezano, a devet gena je povezano s mitohondrijskim tipom nasljeđivanja (3). Najčešći uzrok teškog do potpunog AR oblika NOS (DFNB) su patogene varijante u genu *GJB2* (ili DFNB1A oblik gluhoće, MIM#220290), a blagog do umjerenog DFNB su patogene varijante u genu *STRC* (4,5). DFNA8/12 (MIM#601543) uzrokovana patogenim varijantama gena *TECTA* čini oko 5 % AD NOS (DFNA) i stoga je među najčešćim uzrocima AD OS. (4,6). Većina AD lokusa uzrokuje postlingvalno progresivno OS uz rijetke iznimke u kojima je gubitak sluha prelingvalan (npr. DFNA3 i DFNA8/12). Najveći broj sindroma kod kojih se javljaju naglušost ili gluhoća su monogeniski, dok su neki uzrokovani kombiniranim učinkom više gena i vanjskih čimbenika (multifaktorski). Usherov sindrom je najčešći tip AR oblika SOS dok je Waardenburgov sindrom najčešći AD sindrom s kongenitalnim zamjedbenim OS (2).

Ova je studija nastavak naše prethodne studije o NOS u Hrvatskoj (7). U odnosu na prethodnu studiju ova studija je obuhvatila i bolesnike sa SOS te su ispitane i varijante broja kopija (CNV, engl. *copy number variants*) u genima *STRC* i *OTOA* metodom višestrukog umnažanja vezanih sonda (MLPA, engl. *multiplex ligation-dependent probe amplification*) kod osoba negativnih na DFNB1A oblik gluhoće. Studija Shearer i sur. (2014) na 686 bole-

snika je pokazala da su CNV-i pridonijeli genetičkoj dijagnozi NOS-a u 15.2 % bolesnika (8). Od toga su CNV-i u genu *STRC* činili dvije trećine otkrivenih CNVs, a oni u *OTOA* 13 % CNV-a. Ovi rezultati naglašavaju važnost testiranja CNV-a u genima *STRC* i *OTOA*.

Cilj studije je bio izvijestiti o spektru i učestalosti klinički važnih varijanti otkrivenih u 105 nesrodnih bolesnika s OS kojima je genetičko testiranje napravljeno u Klinici za dječje bolesti Zagreb u razdoblju od travnja 2019. do prosinca 2024. Iz ove studije su isključeni bolesnici s NOS koji su imali dokazanu DFNB1A gluhoću jer su oni bili predmet istraživanja naših prethodnih studija (7, 9).

ISPITANICI I METODE

Ispitanici

Analizirali smo 132 nesrodnih bolesnika iz Hrvatske upućenih na genetičko testiranje izoliranog tj. NOS i SOS u Zavod za medicinsku i laboratorijsku genetiku, endokrinologiju i diabetologiju s dnevnim bolnicom Klinike za dječje bolesti Zagreb. Klinički genetičari Klinike za dječje bolesti Zagreb, Kliničkog bolničkog centra Split, Kliničkog bolničkog centra Osijek i Kliničkog bolničkog centra Zagreb procijenili su bolesnike na temelju obiteljske anamneze, fizikalnog pregleda te, kada je bilo potrebno, i dodatnih laboratorijskih pretraga. U studiju NOS uključeni su bili samo *GJB2*-negativni bolesnici kojima je klinički genetičar dijagnosticirao obiteljski ili sporadični, blagi do teški oblik NOS. Svi bolesnici (10) s kliničkim obilježjima koji su upućivali na stečeni oblik OS (kao što su infekcija, trauma, buka, ototoksični lijekovi i prijevremeni porod) i oni s nedovoljno medicinskih podataka isključeni su iz studije. Bolesnike smo podijelili u dvije skupine, one s NOS i SOS. U studiju je uključeno 66 bolesnika s NOS te 39 bolesnika sa SOS. Od 66 bolesnika s NOS, njih 17 su bili negativni na *GJB2* mutacije iz testiranja DFNB1 lokusa provedenih prije 2022. godine, dok je 49 testirano na *GJB2*, *GJB6*, *STRC* i *OTOA* od 2022. do 2024. godine. Težina OS klasificirana je na sljedeći način: <20 dB, normalan sluh; 20–34,9 dB, blago OS; 35–49,9 dB, umjereno OS; 50–64,9 dB, umjereno teško OS; 65–79,9 dB, teško OS; 80–94,9 dB, duboko OS; i >95 dB, potpuno OS (srednja vrijednost sluha na 0,5–1–2–4 kHz) (10). Uzorci DNA

analizirani su u razdoblju od travnja 2019. do prosinca 2024. Prosječna dob testiranih probanda na NOS na početku istraživanja bila je 2,4 godine (41 mjesec, u rasponu od 1 mjeseca do 40 godina), a za SOS (7 godina, u rasponu od 4 mjeseca do 50 godina). Informirani pristanak dobiven je od svih testiranih ispitanika ili od njihovih roditelja/zakonskih skrbnika.

METODE

Otkrivanje varijanti broja kopija metodom MLPA

U razdoblju od siječnja 2022. do prosinca 2024. kod ukupno 66 ispitanika s NOS koji su bili negativni na *GJB2* i *GJB6* varijante napravljeno je MLPA testiranje na CNV-ije u genima *STRC* i *OTOA*. Studija je uključila 49 ispitanika budući da je iz studije isključeno njih 17 s postlingvalnim i jednostranim OS jer su DFNB16 i DFNB22 kongenitalni i obostрани oblici gluhoće. Neki ispitanici pozitivni na *GJB2* - bialelne varijante su korišteni kao negativne kontrole. MLPA analiza je napravljena korištenjem dvije verzije smjese sonda (MRC-Holland, Nizozemska); SALSA MLPA P461 DIS je korištena od siječnja 2022. do svibnja 2023., a P461-B1 *STRC*-*CATSPER2*-*OTOA* od rujna 2023. do prosinca 2024., prema uputama proizvođača (11). Detaljan opis postupka, aparati i programi za analizu MLPA podataka su već opisani ranije (7, 9). Obje smjese su semi-kvantitativni testovi korišteni za otkrivanje delecija ili duplikacija u genima *STRC*, *CATSPER2* u regiji 15q15.3 i *OTOA* u regiji 16p12.2, kao i konverzija između gena *STRC* i njegovog pseudogena *STRCP1*. Namijenjen je za potvrđivanje potencijalnog uzroka i/ili kliničke dijagnoze sindroma gluhoće-neplodnosti (DIS, engl. *deafness infertility syndrome*), autosomno recesivne gluhoće 16 (DFNB16) i autosomno recesivne gluhoće 22 (DFNB22) (3). Obje smjese sonda obuhvaćaju sonde koje pokrivaju samo dio egzona spomenutih gena. Naime, zbog homolognosti sekvence od preko 98 % između *STRC* i njegovog pseudogena *STRCP1* te *OTOA* i njegovog pseudogena *OTOAP1*, dizajnirane su i u smjese uključene samo one sonde koje mogu razlikovati spomenute gene od njihovih pseudogena.

Analiza kliničkog egzoma sekvenciranjem sljedeće generacije

Od travnja 2019. do prosinca 2024. sekvenciranje kliničkog egzoma (CES, engl. *Clinical exome sequencing*) je napravljeno kod 21 *GJB2*-negativnog bolesnika s NOS i kod 39 bolesnika koji su ispunjavali kriterije za SOS, ukupno 60 bolesnika. Od 21 bolesnika s NOS njih četvero je testirano na *GJB2*, *GJB6*, *STRC* i *OTOA* varijante, a ostali su bili testirani samo na *GJB2* i *GJB6* varijante u razdoblju do 2022. godine. Korišten je TruSight One (TSO) panel s fokusom na egzome 4813 gena povezanih s bolešću (Illumina Inc., SAD). Sekvenciranje je provedeno na Illumininim platformama MiniSeq, MiSeq i NextSeq s 2 x 150 očitavanja sekvenci u oba smjera. Interpretirane su samo one varijante gdje je minimalni medijan pokrivenosti ciljanih regija genoma bio 70x i ako su varijante bile pokrivene s najmanje 20 očitavanja. Detaljan opis baza podataka te bioinformatičkih alata korištenih u analizi CES podataka i interpretaciji varijanti je opisan u radu iz 2024. (7).

Sve varijante klasificirane prema smjernicama Američkog koledža medicinske genetike i genomike/Društva za molekularnu patologiju (ACMG/AMP, engl. *American College of Medical Genetics and Genomics/Association for Molecular Pathology*) u patogene, vjerojatno patogene i varijante nejasnog značaja (VUS, engl. *variants of uncertain significance*) smatrane su mogućim uzrocima OS-a (12). Klinički relevantne varijante kod NOS filtrirane su prema sljedećim fenotipovima navedenim u Ontološkoj bazi podataka o ljudskom fenotipu (HPO, engl. *Human Phenotype Ontology database*): senzorineuralno oštećenje sluha (HP: 0000407) i oštećenje sluha (HP: 0000365). U slučaju SOS, u analizu su uključeni i geni povezani s HPO terminima koji su bili vezani za dodatna klinička obilježja navedena u uputnoj dijagnozi kod bolesnika (13).

REZULTATI

Spektar varijanti kod NOS

Korištenjem kompleta sonda SALSA MLPA P461 koji je prvenstveno namijenjen za otkrivanje delecija i duplikacija u genima povezanim s OS tj. *STRC*, *CATSPER2* i *OTOA*, u četiri bolesnika utvrđene su heterozigotne varijante (na samo jednom alelu) i

Tablica 1. Varijante nađene u bolesnika s nesindromskim oblikom oštećenja sluha

Bolesnik	Gene/Transkript	Varijanta	Promjena u proteinu	Zigotnost	Nasljeđivanje	Pojavnost OS u obitelji	Fenotip	ACMG/AMP klasifikacija
FI4916	TECTA/NM_005422.2	c.6167G>T	p.Cys2056Phe	Het	AD	obiteljski	DFNA8/12	Vjerojatno patogeno
VK0914	TECTA/NM_005422.2	c.6183C>T	p.Arg2061Ser	Het	AD	obiteljski	DFNA8/12	Vjerojatno patogeno
PRJ34720	PCDH15/NM_001142763.1	c.794A>G	p.Asp265Gly	Het	AR	sporadično	DFNB23/Usherov sindrom, tip 1F?	Vjerojatno patogeno
		c.2012+1G>A	NA	Het				Patogeno
LD57319	TMPRSS3/NM_024022.2	c.208del	p.His70Thrfs	Het	AR	sporadično	DFNB8/10	Patogeno
		c.271C>T	p.Arg91Ter	Het				Patogeno
OIP11616	MYO15A/NM_016239.4	c.8183G>A	p.Arg2728His	Het	AR	obiteljski	DFNB3	Patogeno
		c.9518-2A>G	NA	Het				Patogeno
UJ632-23	MYO15A/NM_016239.4	c.7720C>T	p.Gln2574Ter	Het	AR	sporadično	DFNB3	Patogeno
		c.9303+5G>A	NA	Het				Nepoznatog značaja
BD428-21	MYO7A/NM_000260.4	c.2698C>T	p.Arg900Cys	Het	AD	obiteljski	DFNA11	Nepoznatog značaja
S1762-23	KCNQ4/NM_004700.4	c.961G>A	p.Gly321Ser	Het	AD	obiteljski	DFNA2A	Patogeno

to: kod djevojčice s prelingvalnim perceptivnim teškim OS i dječaka s umjerenim do teškim OS je nađena delecija gena *OTOA* i *METTL9*, u jedne bolesnice delecija gena *STRC*, *CATSPER2* i *CKMT1B* i u jedne delecija egzona 19 *STRC* i duplikacija istog egzona *STRCP1*. Zadnje dvije osobe su imale teško do potpuno perceptivno OS. U dvije osobe s *DFNB1A* nađena je delecija egzona 19 *STRCP1* i duplikacija istog egzona *STRC*. U jednog ispitanika koji je imao heterozigotnu deleciju *OTOA* i *METTL9*, delecija je obuhvatila i gen *IGSF6*, a uz to je imao i duplikaciju egzona 19 *STRC*.

CES analizom u skupini bolesnika s NOS u njih osam pronađeno je dvanaest varijanti u šest gena (*TECTA*, *PCDH15*, *TMPRSS3*, *MYO15A*, *MYO7A* i *KCNQ4*). Po jedna varijanta je nađena u *KCNQ4* i *MYO7A*, dvije varijante su nađene u *TECTA*, *PCDH15*, *TMPRSS3*, a četiri varijante u *MYO15A*. Deset varijanti je klasificirano kao patogeno ili vjerojatno patogeno, a dvije varijante (c.9303+5G>A u *MYO15A* i c.2698C>T u *MYO7A*) kao VUS. U četiri probanda je detektirana heterozigotna varijanta u genima *TECTA*, *KCNQ4* i *MYO7A* koja je rezultirala AD OS. U ostala četiri probanda otkrivene su složene heterozigotne varijante u genima *PCDH15*, *TMPRSS3* i *MYO15A* povezanim s AR OS. Ispitanu skupinu s pozitivnim nalazima činilo je pet obiteljskih (*MYO15A*, *MYO7A*, *KCNQ4* i *TECTA* dva slučaja) i tri sporadična slučaja OS (*PCDH15*, *TMPRSS3* i *MYO15A*) (Tablica 1.).

Treba napomenuti kako analiza kliničkog egzoma još uvijek nije napravljena u 45 bolesnika s NOS koji su testirani u razdoblju 2022.-2024. na varijante u genima *GJB2*, *STRC* i *OTOA* te u 151 *GJB2*-negativnih bolesnika testiranih do 2022. iz naših prethodnih studija, dakle ukupno 196 *GJB2*-negativnih bolesnika (7, 9).

Spektar varijanti kod SOS

U 29 osoba u skupini sa SOS otkriveno je 35 različitih patogenih/vjerojatno patogenih varijanti u 21 genu: *NOG*, *SOX10*, *GATA3*, *SLC26A4*, *USH2A*, *PAX3*, *COL11A2*, *TCOF1*, *DIAPH1*, *ATP6V1B1*, *ADNP*, *SIX1*, *CHD7*, *MAN2B1*, *ORC1*, *PEX6*, *COL2A1*, *ALOX12B*, *AAAS*, *MYO7A* i *COL4A5* (Tablica 2. i 3.). Po jedna varijanta u heterozigotnom obliku je nađena u genima *NOG*, *GATA3*, *DIAPH1*, *ADNP*, *SIX1*, *CHD7*, *SOX10* i *COL2A1* koji su svi bili vezani za AD oblik nasljeđivanja, s napomenom da

Tablica 2. Varijante nađene u bolesnika sa sindromskim oblikom oštećenja sluha

Bolesnik	Gen/Transkript	Varijanta	Promjena u proteinu	Zigotnost	Nasljeđivanje	Pojavnost OS u obitelji	Fenotip	ACMG/AMP klasifikacija
LA19613	NOG/NM_005450.6	c.291delC	p.Ala98Argfs	Het	AD	obiteljski	Teunissen-Cremersov sindrom	Patogeno
DL47917	GATA3/ NM_001002295.2	c.404dup	p.Ala136Glyfs	Het	AD	sporadično	Barakatov sindrom	Patogeno
KN01213	SLC26A4/ NM_000441.2	c.1334T>G	p.Leu445Trp	Het	AR	obiteljski	Pendredov sindrom	Patogeno
		c.918+1G>T	NA	Het				Patogeno
PI44118	USH2A/ NM_206933.4	c.4933G>T	p.Gly1645Ter	Het	AR	sporadično	Usharov sindrom tip 2A	Patogeno
		c.11140C>T	p.Gln3714Ter	Het				Patogeno
TI1920	USH2A/ NM_206933.4	c.2610C>A	p.Cys870Ter	Het	AR	sporadično	Usharov sindrom tip 2A	Patogeno
		c.1277delA	p.Asn426Thrfs	Het				Patogeno
BM555-20	USH2A/ NM_206933.4	c.11864G>A	p.Trp3955Ter	Het	AR	sporadično	Usharov sindrom tip 2A	Patogeno
		c.2610C>A	p.Cys870Ter	Het				Patogeno
SJ80220	USH2A/ NM_206933.4	c.11864G>A	p.Trp3955Ter	Het	AR	sporadično	Usharov sindrom tip 2A	Patogeno
		c.7524del	p.Arg2509Glyfs	Het				Patogeno
VM07621	USH2A/ NM_206933.4	c.11864G>A	p.Trp3955Ter	Het	AR	sporadično	Usharov sindrom tip 2A	Patogeno
		c.13335_13343del	p.Glu4445_ Met4447del	Het				Patogeno
PA91220	USH2A/ NM_206933.4	c.2299del	p.Glu767Serfs	Het	AR	sporadično	Usharov sindrom tip 2A	Patogeno
		c.7524del	p.Arg2509Glyfs	Het				Patogeno
KD36320	USH2A/ NM_206933.4	c.11864G>A	p.Trp3955Ter	Het	AR	sporadično	Usharov sindrom tip 2A	Patogeno
		druga varijanta?						
VM3915	PAX3/NM_181458.4	c.233T>A	p.Val78Glu	Het	AD	obiteljski	Waardenburgov sindrom tip 1	Patogeno
RJ54820	PAX3/NM_181458.4	c.232G>A	p.Val78Met	Het	AD	obiteljski	Waardenburgov sindrom tip 1	Patogeno
RT67522	COL11A2/ NM_080680.3	c.1636C>T	p.Arg546Ter	Het	AD, AR?	sporadično	otospondilomegapepifizealna displazija(Stickler sindrom III). U literaturi se opisuje s AR otospondilomegapepifizealnom displazijom (PMID: 10677296).	Patogeno

Bolesnik	Gen/Transkript	Varijanta	Promjena u proteinu	Zigotnost	Nasljeđivanje	Pojavnost OS u obitelji	Fenotip	ACMG/AMP klasifikacija
Š1102423	COL11A2/ NM_080680.3	c.2554C>T	p.Arg852Ter		AD, AR?	sporadično	AD otospondilomegalepifiznu displaziju (OSMEDA; MIM#184840) ili AR – OSMEDB	Vjerojatno patogeno
DP53120	TCOF1/ NM_001371623.1	c.4372_4376del	p.Lys1458fs	Het	AD	sporadično	Treacher Collins syndrome-1	Patogeno
BN33018	TCOF1/ NM_001371623.1	c.3840_3841del	p.Ala1282fs	Het	AD	sporadično	Treacher Collins syndrome-1	Vjerojatno patogeno
TT81423	DIAPH1/ NM_005219.4	c.3637C>T	p.Arg1213Ter	Het	AD	obiteljski	AD gluhoća tip 1 s trombocitopenijom	Patogeno
GZ98523	ATP6V1B1/ NM_001692.4	c.242T>C	p.Leu81Pro	Hom	AR	obiteljski	Distalna renalna tubularna acidoza 2 s progresivnom perceptivnom gluhoćom	Patogeno
IB23518	ADNP/NM_015339.4	c.2496_2499del	p.Asn832Lysfs	Het	AD	sporadično	Helsmoortel-van der Aa sindrom	Patogeno
MM6624	COL4A5/ NM_033380.3	c.1871G>A	p.Gly624Asp	Het	X- vezano domin	obiteljski	Alport sindrom tip 1	Patogeno
VM28624*	SIX1/NM_005982.3	c.520A>C	p.Asn174His	Het	AD	sporadično	AD branhiootični sindrom 3 - (vjerojatno) ili gluhoća tip 23	Patogeno
ŠP6219*	CHD7/NM_017780.4	c.3345C>A	p.Cys1115Ter	Het	AD	sporadično	CHARGE sindrom	Patogeno
ŠJ7518	MAN2B1/ NM_000528.4	c.2248C>T	p.Arg750Trp	Hom	AR	sporadično	Lizomska bolest nakupljanja-manozidoza ALPHA B	Patogeno
FV35518	ORC1/NM_004153.4	c.1996C>T druga varijanta?	p.Arg666Trp	Het	AR	sporadično	sindrom Meier-Gorlin 1	Patogeno
GE7009	PEX6/NM_000287.3	c.1314_1321del c.2626C>T	p.Glu439Glyfs p.Arg876Trp	Het	AR	sporadično	Heimlerov sindrom tip 2	Patogeno Vjerojatno patogeno

*Nove varijante otkrivene u ovoj studiji označene su podebljanim tekstom

Tablica 3. Varijante nađene u bolesnika sa složenim sindromskim oblikom oštećenja sluha

Bolesnik	Gene/Transkript	Varijanta	Promjena u proteinu	Zigotnost	Nasljeđivanje	Pojavnost OS u obitelji	Fenotip	ACMG/AMP klasifikacija
KK03215	SOX10/NM_006941.3	c.456dup	p.Phe153Leufs	Het	AD	sporadično	Waardenburgov sindrom tip 4C	Patogeno
	COL2A1/NM_001844.4	c.2668C>T pat	p.Gln890Ter	Het	AD	obiteljski	Sticklerov sindrom tip I, nesindromski oblik sa zahvaćanjem vida	Patogeno
LJA75320	USH2A/NM_206933.2	c.11864G>A	p.Trp3955Ter	Hom	AR	NA	Usherov sindrom tip 2A	Patogeno
	ALOX12B/NM_001139.2	c.1562A>G	p.Tyr521Cys	Hom	AR	NA	Kongenitalna ihtioza tip 2	Patogeno
PT57321	GJB2/NM_004004.6	c.35delG	p.Gly12ValfsTer	Hom	AR	NA	DFNB1A	Patogeno
	AAAS/NM_015665.5	c.1159C>T	p.Gln387Ter	Hom	AR	NA	Triple A sindrom	Patogeno
VI34521	MYO7A/NM_000260.3	c.[635G>A];[5208del]	p.[Arg212His];[Lys1737Argfs]	Het	AR	sporadično	Usher tip 1B?	Patogeno
	COL4A5/NM_033380.2	c.1871G>A pat	p.Gly624Asp	Het	X-vezano dominantno	obiteljski	sindrom Alport 1	Patogeno

smo varijante u zadnja dva gena pronašli kod iste osobe. Dvije su varijante nađene u genima *PAX3*, *TCOF1* i *COL11A2* kod različitih bolesnika u heterozigotnom obliku s tim da su u slučaju prva dva gena radi o AD sindromima, a u dva slučaja s *COL11A2* varijantama nije jasan oblik nasljeđivanja. Homozigotne varijante našli smo u genima *USH2A*, *ALOX12B*, *AAAS*, *ATP6V1B1* i *MAN2B1* kod AR oblika SOS. Zanimljivo je da su dvije osobe bile dvostruki homozigoti, jedna za varijante u genima *USH2A* i *ALOX12B*, a druga za varijante u genima *GJB2* i *AAAS* (Tablica 3.). U osam ispitanika nađene su patogene varijante u genu *USH2A* koje su uzrok AR Usher sindroma tip 2a (*USH2A*). Otkriveno je osam različitih varijanti s tim da je varijanta c.11864G>A nađena kod pet, a varijante c.2610C>A i c.7524del kod dva bolesnika. U jedne osobe nađena je česta varijanta c.11864G>A na samo jednom alelu. Složene heterozigotne varijante nađene su u genima *SLC26A4*, *PEX6* i *MYO7A* u tri osobe. Heterozigotna varijanta u *ORC1* nađena je kod jedne osobe, ali nije nađena druga varijanta koja bi potvrdila dijagnozu sindroma Meier-Gorlin 1 (MIM # 224690). U dvije ženske osobe otkrivena je varijanta c.1871G>A u genu *COL4A5* koja se nasljeđuje X-vezano dominantno i uzrokuje nastanak Alport sindroma 1. Jedna od ovih osoba bila je i složeni heterozigot za patogene varijante u genu *MYO7A*.

U ovoj su skupini otkrivene dvije nove varijante: c.520A>C u *SIX1* i c.3345C>A u *CHD7*.

RASPRAVA I ZAKLJUČCI

Činjenica da je OS najčešći osjetni poremećaj te da intervencija prije 6. mjeseca života značajno poboljšava adaptaciju osoba s OS, potiču nas da što ranije pristupimo dijagnostici ovih poremećaja.

Varijante u lokusu 13q12, *DFNB1* (*GJB2* i *GJB6*), uzrok su čak polovice svih *DFNB*-a kako u Hrvatskoj tako i u ostalim dijelovima Europe. *DFNB16* oblik OS uzrokovan varijantama u *STRC* smatra se drugim najčešćim uzrokom *DFNB*-a (4, 5). Gen *STRC* kodira ekstracelularni strukturni protein stereocilin koji je izražen u vanjskim dlakavim stanicama unutarnjeg uha. *STRC* se nalazi u skupini vezanih gena koju još čine: *CATSPER2*, *PP1P5K1* i *CKMT1B*. Iako se u genu *STRC* mogu naći različite vrste genetičkih promjena, bialelne delecije čine većinu *STRC* patogenih varijanti (5). Delecije

STRC-a često su popraćene delecijama gena CATSPER2 koji je odgovoran za pokretljivost spermija.

Bialelne varijante gubitka funkcije u OTOA su poznati uzrok umjerenog do potpunog OS. Nađena delecija gena OTOA i METTL9 ili slične delecije koje obuhvaćaju gen OTOA su već opisane kod osoba s DFNB22 (MIM#607039) u homozigotnom ili složenom heterozigotnom obliku. Za potvrdu dijagnoze DFNB22 kod dva bolesnika koji su bili heterozigoti na delecije OTOA i METTL9 gena potrebno je u drugom alelu gena OTOA utvrditi dodatnu patogenu varijantu, a koju nismo našli CES analizom. Naime, korištenjem tehnologije sekvenciranja sljedeće generacije (NGS, engl. *next generation sequencing*) s kratkim čitanjima sekvence koja se koristi u CES analizi nije moguće sa sigurnošću detektirati varijante u egzonima 20-28 OTOA zbog prisutnosti OTOA pseudogena. Za razlikovanje OTOA i njegovog pseudogena OTOAP1 potrebno je sekvenciranje s pomoću NGS tehnologija treće generacije koje se zasnivaju na sekvenciranju dugih čitanja (engl. *long read sequencing*). Takve platforme za sekvenciranje s dugim čitanjima u sekvenciranju cijelog genoma (engl. *whole genome sequencing*; WGS), osim što mogu riješiti probleme sa pseudogenima, omogućuju otkrivanje CNV i strukturnih varijanti, ali zbog visoke cijene se još uvijek rijetko koriste u kliničkoj praksi. Umjesto njih, za detekciju delecija OTOA i konverzija između OTOA i OTOAP1 češće se koristi analiza dubine čitanja nakon sekvenciranja cijelog egzoma (WES, engl. *whole exome sequencing*) ili WGS u kombinaciji s lančanom reakcijom polimeraze dalekog dosega (engl. *long range polymerase chain reaction* ili *long range PCR*) (14).

Heterozigotna duplikacija sonde za egzon 19 STRC koja je nađena kod ispitanika s heterozigotnom delecijom OTOA, METTL9 i IGSF6 nema jasno kliničko značenje. Specifičnost ovih sonde oslanja se na razliku samo jednog nukleotida u usporedbi s povezanim genom ili pseudogenom. Kao rezultat, prividno dupliciranje samo ovih sonde gena STRC može biti rezultat neznačajne promjene slijeda jednog nukleotida tj. polimorfizma u vezanom genu/pseudogenu. Također, ova duplikacija može nastati zbog preslagivanja/konverzije između gena STRC i pseudogena STRCP1. Ovu konverziju smo otkrili kod dvije kontrole korištenjem novije

verzije smjese sonde (P461-B1) koja je, za razliku od prethodne verzije, uključivala i sonde za STRCP1 (11). U slučaju konverzije, duplikaciju egzona 19 STRC uvijek prati i delecija odgovarajućeg egzona pseudogena. S obzirom na to da je ova konverzija otkrivena kod osoba koje su već imale dokazani genetički uzrok OS, vjerojatno je benigna.

Monoalelna delecija gena STRC, CATSPER2 i CKMT1B nađena je kod ženske osobe s teškim do potpunim obostranim perceptivnim OS. Bialelne delecije gena STRC i CATSPER2 su opisane kod osoba s DIS s tim da se neplodnost javlja samo kod muškaraca. Za potvrdu DFNB16 dijagnoze potrebno je u drugom alelu gena STRC utvrditi patogenu varijantu. Kao i kod gena OTOA i OTOAP1 za to je potrebno sekvenciranje gena NGS tehnologijom treće generacije i/ili daleko dosežni PCR koji može razlikovati STRC od njegovog pseudogena. Sonde za METTL9, IGSF6 i CKMT1B su granične sonde čija je jedina uloga precizno određivanje veličine delecije/duplikacije stoga promjene u broju kopija tih sonde nemaju klinički značaj (11). Kod ženske osobe s teškim do potpunim obostranim perceptivnim OS nađena je delecija egzona 19 STRC i duplikacija istog egzona STRCP1 na jednom alelu. Vjerojatno se radi o konverziji STRC koja nema jasan klinički značaj.

Rezultati meta analize prevalencije STRC mutacija objavljeni 2021. pokazali su da je prevalencija nositelja varijanti STRC u bolesnika s OS (GJB2-negativni) 4.84 % (od 0.92 % u Španjolskoj do 11.27 % u Kini) dok je prevalencija u osoba s normalnim sluhom 1.36 % (5). S obzirom na ovako visoku prevalenciju nositelja i da se DFNB16 obično veže s blagim do umjerenim OS, upitno je je li kod ove dvije ispitanice delecija gena STRC uzrok OS. Za razliku od toga, delecije OTOA su puno rjeđe, procjenjuju se u rasponu od manje od 0.1 % u gnomAD SV v2.1 do manje od 0.2 % u bazi *Database of Genomic Variants* (15). Budući da oba ispitanika spadaju u kategoriju umjerenog do teškog OS, vjerujemo da je moguće da se radi o DFNB22, ali za to su potrebna daljnja istraživanja.

Za razliku od naše prethodne studije gdje su kod AR oblika NOS dominirale mutacije u genu GJB2, u ovoj studiji, iz koje smo isključili DFNB1, nema gena koji bi se isticao kao uzrok NOS. CES analizom otkrivena su tri AD oblika NOS: DFNA8/12, DFNA11 i DFNA2A. Treba naglasiti da su svi bili

obiteljski slučajevi što i nije rijedak nalaz kod ovih AD oblika NOS. Mutacije u genu *TECTA* su jedan od najznačajnijih uzročnika AD srednjefrekventnog ili visokofrekventnog gubitka sluha (DFNA8/12) u različitim populacijama. *TECTA* kodira nekologenski glikoprotein α -tektorin koji čini glavnu komponentu tektorijalne membrane u pužnici. DFNA11 (MIM#601317) uzrokuju heterozigotne varijante u genu *MYO7A*, a obilježena je progresivnim neurosenzornim postlingvalnim OS (16). Kod ispitanika s umjerenim perceptivnim bilateralnim postlingvalnim OS nađena je *missense* varijanta c.2698C>T u *MYO7A*. Ova varijanta c.2698C>T je opisana u bazi ClinVar kao VUS, te se tako klasificira i prema ACMG/AMP kriterijima (PP2, PP3, PM2). Ista heterozigotna varijanta je nađena kod sestre s blagim do umjerenim progresivnim OS, ali i kod majke s normalnim sluhom. S obzirom na to da se DFNA11 može javiti i nakon 40. godine života, nije isključeno da i majka kasnije razvije OS. Međutim, obrazac nasljeđivanja više upućuje na AR oblik OS pa je upitno je li ova monoalelna varijanta uzročnik OS u ovoj obitelji. Gen *KCNQ4* kodira kanal kojim prolaze kalijevi ioni iz stanica s dlačicama u okolne stanice, a njegove mutacije uzrokuju DFNA2 (MIM#600101) kojeg karakterizira simetrični, pretežno visokofrekventni perceptivni gubitak sluha koji je progresivan na svim frekvencijama. Nadalje, nađena su tri AR oblika NOS: DFNB23 ili Usherov sindrom tip 1F, DFNB8/10 i DFNB3. U jednom slučaju DFNB3 (MIM#600316), varijanta c.9303+5 u *MYO15A* je anotirana kao VUS. Tako je klasificirana u ClinVar (ID:523518) te se kod osoba s OS može pronaći u *trans* položaju s drugom patogenom varijantom. Ova varijanta nije prisutna u populacijskoj bazi gnomAD, a *in silico* algoritmi za teoretsko predviđanje patogenosti predviđaju štetan učinak varijante. Iz navedenih razloga, prema ACMG/AMP klasifikaciji (PP3, PM2), ova varijanta se smatra VUS (3, 12, 17).

Poteškoće u analizi NOS-a su izrazita genska heterogenost i činjenica da različite varijante u istom genu (npr. *GJB2*, *TECTA* i *MYO7A*) mogu uzrokovati recesivne i dominantne oblike NOS pa čak i SOS (npr. u genima *PCDH15* i *MYO7A*) što otežava genetičko savjetovanje zahvaćenih obitelji (3). U slučaju patogenih varijanti u *PCDH15* nađenih kod četverogodišnjeg dječaka vrijeme će pokazati je li riječ o NOS tj. o DFNB23 (MIM#609533) ili Usherov

rovu sindromu tip 1F (MIM# 602083), ovisno o tome hoće li se kasnije pojaviti progresivna, bilateralna, simetrična degeneracija retine tj. retinitis pigmentosa (RP) (18).

Kod SOS našli smo 19 različitih sindroma s tim da dva sindroma navedena kod složenih sindromskih oblika (Triple A sindrom i kongenitalna ihtioza tip 2) koji nisu vezani za OS, nismo uračunali. Među ovih 19 našli su se najučestaliji SOS: Usherov, Pendredov, Waardenburgov, Alportov i Stickler sindrom, ali i neki rijetki oblici kao npr. Helsmoortelvan der Aa sindrom i Heimlerov sindrom tip 2. Budući da prostor ograničava raspravu o svim varijantama nađenim u SOS, a o varijantama u genima *NOG*, *GATA3*, *SLC26A4*, *SOX10* i *COL2A1* je bilo rasprave u prethodnom radu, ovdje će se raspravljati samo o slučajevima koja je važno spomenuti s obzirom na učestalost varijanti, složenost kliničke slike i izazove u dijagnostici OS (7).

Usherov sindrom (USH) je najčešći tip AR sindromskog OS. USH je klinički i genetički heterogen AR poremećaj obilježen kongenitalnim perceptivnim, bilateralnim OS i razvojem RP obično u 2. desetljeću života odnosno adolescenciji. Najčešći je uzrok kombiniranog javljanja OS i sljepoće u odraslih i pogađa 3 do 6 % djece rođene s OS. Usherov sindrom tip I (USH1) može biti uzrokovan patogenim varijantama u najmanje šest gena, među ostalim u *MYO7A* i *PCDH15*. USH1 karakterizira kongenitalno teško do potpuno perceptivno OS i vestibularna disfunkcija. Slušna pomagala su obično neučinkovita kod USH1 te je indicirana što ranija ugradnja kohlearnog implanata. Usherov sindrom tip II (USH2) čini 70 % svih oblika USH i može biti uzrokovan patogenim varijantama u tri gena *USH2A*, *ADGRV1* i *DFNB31*. Mutacije gena *USH2A* povezane su s Usherovim sindromom tipa IIa (MIM#276901;USH2A) ili izoliranom RP tip 39 (MIM#613809). Bolesnici s *USH2A* imaju blago do umjereno OS u niskim frekvencijama i teško do potpuno OS u višim frekvencijama s normalnim vestibularnim odgovorima (19). Varijanta c.11864G>A (p.Trp3955Ter) u genu *USH2A* je nađena kod pet od osam bolesnika s *USH2A*: tri složena heterozigota, jednog heterozigota te jednog homozigota. Ona je više puta opisana u bolesnika s RP i Usherovim sindromom tipa 2 iz raznih zemalja, kao i u slučajevima izoliranog nasljednog gubitka sluha. U studiji koja je

analizirala veliku kohortu od 282 bolesnika s USH2 iz raznih europskih medicinskih centara nađeno je da su dvije najčešće mutacije u USH2A bile: c.2299del i c.11864G>A. Udjeli bolesnika s USH2A koji su nosili varijantu c.2299del i varijantu c.11864G>A bili su 32,7 % (18/55) i 20 % (11/55) u Njemačkoj, 28,7 % (29/101) i 4,9 % (5/101) u Francuskoj, 11,1 % (4/36) i 11,1 % (4/36) u Italiji, odnosno 0 % (0/40) i 82,5 % (33/40) u Sloveniji (19, 20). Također u 14 ruskih bolesnika sa sindromskim oblikom RP varijanta c.11864G>A je bila najčešća, čineći 35,7 % mutiranih alela (20). Slično kao i u Sloveniji i Rusiji, i u našoj studiji je varijanta c.11864G>A bila najčešća kod osoba s USH2A, s udjelom od 40 % (6/15) mutiranih alela tj. u 62,5 % (5/8) bolesnika s USH2A. Akumulacija ove patogene varijante u srednjoj Europi pripisuje se učinku osnivača, a izrazito visoka prevalencija u slovenskih bolesnika vjerojatno je posljedica višestrukih nepovezanih osnivača kao rezultat migracije iz susjednih populacija (22). Kod osobe koje je imala monoalelnu varijantu u USH2A trebalo bi ispitati i CNV koje mogu znatno smanjiti broj neriješenih USH2A slučajeva. (19, 23).

Otkrivene su dvije nove patogene varijante: c.520A>C u SIX1 i c.3345C>A u CHD7. Ove varijante nisu pronađene u dostupnim bazama podataka (ClinVar, HGMD, LOVD) ni u znanstvenoj literaturi (17, 24, 25). Kod 10-ogodišnjeg dječaka s klinički postavljenom sumnjom na sindrom CHARGE (MIM #214800) (stanje nakon operacije atrezije hoana, obostrana zamjedbena naglušnost kao posljedica obostrane hipoplazije kohleje, aplazije vestibuluma i polukružnih kanalića, nedostatak n. statoacusticus desno, coloboma PNO i korioretne) CES analizom je otkrivena heterozigotna nonsense varijanta u egzonu 13 gena CHD7 (OMIM*608892). Rezultat ove mutacije je preuranjeni STOP kodon na poziciji 1115 (p.Cys1115Ter) u proteinu CHD7 koji ima ulogu u regulaciji transkripcije. Patogene varijante ovog gena povezuju se s AD sindromom CHARGE (26). Ova promjena se prema ACMG/AMP klasifikaciji (PVS1, PM2, PP3) smatra patogenom (12). Kod 10-godišnje djevojčice s rascjepom nepca, malformacijom uški, aplazijom obje pužnice, obostranom gluhoćom, stenozom/aplazijom slušnog kanala, kašnjenjem u razvoju, strabizmom, slabovidnosti, spina bifida-om, stanjem nakon febrilnih konvulzija, kardiorespiratornog aresta, i nakon paralitič-

kog ileusa, otkrivena je heterozigotna pogrešna (engl. *missense*) *de novo* varijanta c.520 A>C u genu SIX1 (OMIM *601205) koja je dovela do supstitucije aminokiseline arginin u histidin u kodonu 174. Patogene varijante u genu SIX1 uzrokuju AD poremećaje: branhiootični sindrom 3 (MIM #608389) i gluhoću 23 (MIM #605192), a ovdje se radi o sindromskom obliku (27). Prema ACMG/AMP klasifikaciji otkrivena promjena se smatra patogenom (PS2, PP3, PM1, PM2) (12).

Procjenjuje se da 2-5 % osoba s kongenitalnim OS ima Waardenburgov sindrom (WS). S obzirom na genotipske i fenotipske varijacije, postoje četiri različita tipa WS, a tip WS1 je uzrokovan mutacijama u PAX3. WS1 je obilježen s kongenitalnim zamjedbenim najčešće obostranim i potpunim OS, pigmentacijskim anomalijama šarenica, kose i kože (kongenitalna leukodermija) te *dystopia canthorum* (lateralno pomaknut unutarnji očni kut) (28). Zanimljivo je da smo kod dva obiteljska slučaja WS1 našli različite *missense* varijante u egzonu 2, ali u istom kodonu 78 proteina, koje mijenjaju aminokiselinu valin u metionin odnosno glutaminsku kiselinu. Premda ovaj egzon 2 ima najveću stopu *missense* mutacija u PAX3, nismo pronašli podatak da je učestalost mutacija u kodonu 78 značajno veća (17).

Alportov sindrom (AS) je nasljedni poremećaj bazalne membrane, koji rezultira progresivnim zatajenjem bubrega zbog glomerulonefropatije, varijabilnim perceptivnim OS i različitim očnim anomalijama. AS je genetički heterogen poremećaj, a svi njegovi oblici su rezultat mutacija u genima koji kodiraju kolagen tipa IV, koji je glavna strukturna komponenta bazalne membrane. X-vezani sindrom Alport 1 (MIM#301050) je uzrokovan patogenim varijantama u COL4A5 i čini do 80 % slučajeva AS-a. OS je bilateralno, progresivno, u visokim frekvencijama te se obično ne manifestira prije desete godine života (29). Za istaknuti je da smo istu varijantu c.1871G>A u COL4A5 pronašli kod dvije ženske osobe s različitom kliničkom slikom. Kod 17-godišnje djevojke zabilježena je hematurija, proteinurija te sumnja na OS, dok je kod trogodišnje djevojčice zabilježeno kongenitalno obostrano teško zamjedbeno OS, ali bez bubrežne bolesti. Kod 17-godišnjakinje baka i otac imaju obiteljsku hematuriju, a otac, baka te bakina sestra i brat također imaju i OS. U

trogodišnjakinje otkrivene su još i dvije patogene varijante u genu *MYO7A* (MIM*276903). Bialelne patogene varijante u *MYO7A* se povezuje s AR gluhoćom 2 (MIM#600060) te AR sindromom Usher tip 1B (MIM #276900) (16). OS prisutno kod ove djevojčice je posljedica mutacija u *MYO7A*, a ne u *COL4A5*. Kod obje ispitanice potrebno je redovito kontrolirati vid vezano za Usher tip 1B odnosno AS, te bubrežnu funkciju s obzirom na AS.

U jednog jednogodišnjeg i jednog sedmogodišnjeg dječaka s rascjepom nepca i perceptivnim OS nađene su heterozigotne besmislene varijante c.2554C>T odnosno c.1636C>T u genu *COL11A2* (MIM*120290). Heterozigotne patogene varijante u genu *COL11A2* mogu uzrokovati AD otospondilomegaepifiznu displaziju (OSMEDA; MIM#184840), također poznatu kao Weissenbacher-Zweymullerov sindrom (WZS) ili neokularni Sticklerov sindrom, koji ima tipičnu sistemsku manifestaciju bez očnih anomalija, jer je *COL11A2* (odgovorni za stvaranje kolagena tipa XI) izražen u zglobovima, unutarnjem uhu i kraniofacijalnim strukturama, ali ne u oku. Nešto teži oblik AR otospondilomegaepifizna displazija (OSMEDB; MIM#215150) također je uzrokovana mutacijama gena *COL11A2*. OSMED karakterizira perceptivna gluhoća i relativno kratki ekstremiteti s abnormalno velikim koljenima i laktovima, ali normalnom ukupnom duljinom tijela. Bolesnici imaju tipične crte lica, uključujući hipoplaziju srednjeg dijela lica stoga i rascjep nepca (30). Problem kod dijagnostike OSMED, ako nemate dostupne roditelje za testiranje, je utvrđivanje načina nasljeđivanja varijante tj. radi li se o OSMEDB ili OSMEDA. Kod starijeg dječaka kod kojega je prisutna i teža klinička slika vjerojatno se radi o OSMEDB jer je varijanta c.1636C>T već spomenuta u literaturi kod OSMEDB oblika. To znači da još treba naći dodatnu uzročnu varijantu za potvrdu genetičke dijagnoze. Kod mlađeg dječaka s varijantom c.2554C>T, teško je reći o kakvom obliku OSMED se radi samo iz kliničke slike jer je još premali, a status nositeljstva kod roditelja nije određen.

Heterozigotna varijanta u *ORC1* nađena je kod jednogodišnje djevojčice s usporenim neuromotornim razvojem, anemijom, dismorfijom, IUGR, stanjem nakon perinatalne asfiksije, hipotrofijom, obostranom atrezijom zvukovoda i umjerenom naglušosti. Nije nađena druga patogena varijanta

koja bi potvrdila dijagnozu AR sindroma Meier-Gorlin 1 (MIM # 224690), stoga je potrebno testirati ostale kodirajuće regije (npr. egzon 6) te nekodirajuće regije *ORC1* gena koje su ovim TSO panelom slabo ili nisu pokriveni (31).

U složenim sindromskim oblicima, otkrili smo dva složena homozigota. U slučaju 35-godišnje bolesnice s *USH2A* te AR kongenitalnom ihtiozom tip 2 (MIM#242100), OS je posljedica homozigotne varijante c.11864G>A u *USH2A*. U drugom slučaju riječ je o jedno i pol godišnjem dječaku s teškom kongenitalnim OS koje je posljedica c.35delG u *GJB2* genu tj. *DFNB1A*, ali ne Triple A sindroma (MIM#231550). Premda se radi o dvostrukim homozigotima, podataka o krvnom srodstvu u obitelji nema.

Ograničenja ove studije su bila prvenstveno metodološke prirode. U odnosu na prethodnu studiju, napravljena je analiza CNV-a kod osoba s NOS. Međutim, u tu studiju je uključeno premalo bolesnika s prelingvalnim bilateralnim OS da bi uspjeli otkriti one sa *STRC*- i *OTOA*-vezanim OS. Također, s postojećim molekularnim tehnikama koje se primjenjuju u dijagnostici u našem Zavodu nismo u mogućnosti testirati sve egzone *STRC* i *OTOA* gena, zbog postojanja pseudogena, pa je moguće to dodatni razlog zašto kod osoba s heterozigotnom delecijom ovih gena nismo našli patogenu varijantu na drugom alelu. Nadalje, u većine *GJB2* negativnih bolesnika s NOS, još uvijek nije testiran klinički egzom. Razlog tome je što se mali broj takvih bolesnika nakon dobivanja negativnih MLPA nalaza upućuje dalje na CES analizu. CES analizu bi pogotovo bilo korisno napraviti kod bolesnika s postlingvalnim AD obiteljskim oštećenjem sluha koji su redovito negativni MLPA testiranjem gena *GJB2*, *STRC* i *OTOA*, a velika je vjerojatnost da se kod njih nađe genetički uzrok OS.

Također, treba napomenuti da ovom studijom nisu obuhvaćeni mitohondrijski geni čije mutacije mogu doprinijeti razvoju perceptivnog, bilateralnog, uglavnom progresivnog i sindromskog OS. Smatra se da je oko 5 % postlingvalne gluhoće u bjelačkoj populaciji uzrokovano upravo mitohondrijskim poremećajima (3, 32).

USH2A se isticao kao vodeći uzrok kongenitalnog OS, a varijanta c.11864G>A u genu *USH2A* je bila najčešća varijanta u SOS. Visoka zastupljenost

ove varijante u našoj populaciji vjerojatno je posljedica učinka osnivača, slično kao i u ostalim zemljama centralne Europe. S obzirom na vrlo heterogenu etiologiju OS te postojanje pseudogena *STRCP1* i *OTOAP1*, dijagnostika OS je klinički i metodološki vrlo kompleksna i izazovna. Pogotovo treba biti oprezan u dijagnostici složenih sindromskih oblika OS gdje promjene u različitim genima u istog bolesnika mogu doprinijeti etiologiji OS odnosno njegovim ostalim kliničkim obilježjima. Upravo širokogenomska analiza poput CES-a omogućuje razjašnjavanje etiologije OS u takvim izazovnim slučajevima. Ovim istraživanjem dobivene su vrijedne spoznaje važne kako za dijagnostiku oboljelih s OS tako i otkrivanje i genetsko savjetovanje rizičnih članova obitelji što unaprijeđuje skrb o oboljelima s OS.

ZAHVALA

Zahvaljujem se bolesnicima i obiteljima na sudjelovanju i suradnji u studiji. Također, veliko hvala svim pedijatrima, pogotovo kliničkim genetičarima iz svih kliničkih bolničkih centara u RH na dugogodišnjoj suradnji.

Potpora/Funding

Rad je izrađen u okviru Znanstvenog centra izvrsnosti za reproduktivnu i regenerativnu medicinu, a financiran sredstvima Europske unije kroz Europski fond za regionalni razvoj, u okviru projekata: „Reproduktivna i regenerativna medicina – Istraživanje novih platformi i potencijala” (ugovor o dodjeli bespovratnih sredstava br. KK.01.1.1.01.0008) i “Razvoj i jačanje istraživačkih i inovacijskih kapaciteta, te primjena naprednih tehnologija”.

Kratice:

OS	- oštećenje sluha
NOS	- nesindromsko oštećenje sluha
SOS	- sindromsko oštećenje sluha; AR- autosomno recesivno
AD	- autosomno dominantno
DFNA	- deafness, non-syndromic, autosomal dominant
DFNB	- deafness, non-syndromic, autosomal recessive
USH	- Usherov sindrom
WS	- Waardenburg sindrom

CNV	- varijante broja kopija (engl. <i>copy number variants</i>)
MLPA	- metoda višestrukog umnažanja vezanih soni (engl. <i>Multiplex ligation-dependent probe amplification</i>); DIS- sindrom gluhoće-neplodnosti (engl. <i>deafness infertility syndrome</i>)
CES	- sekvenciranje kliničkog egzoma (engl. <i>Clinical exome sequencing</i>)
TSO	- TruSight One
NGS	- sekvenciranje sljedeće generacije (engl. <i>next generation sequencing</i>)
WGS	- sekvenciranje cijelog genoma (engl. <i>whole genome sequencing</i>)
WES	- sekvenciranje cijelog egzoma (engl. <i>whole exome sequencing</i>)
ACMG/AMP	- Američki koledž medicinske genetike i genomike/Društvo za molekularnu patologiju (engl. <i>American College of Medical Genetics and Genomics/Association for Molecular Pathology</i>)
VUS	- varijante nejasnog značaja (engl. <i>variants of uncertain significance</i>)
HPO	- Ontološka baza podataka o ljudskom fenotipu (engl. <i>Human Phenotype Ontology database</i>)
RP	- retinitis pigmentosa
USH1	- Usherov sindrom tip 1
USH2A	- Usherov sindrom tip IIa
AS	- Alportov sindrom

LITERATURA

1. Van Camp G, Willems PJ, Smith RJH. Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. *Am J Hum Genet.* 1997;60(4):758-64.
2. Toriello HV, Smith SD, editors. *Hereditary hearing loss and its syndromes*. 3rd ed. Oxford University Press; 2013.
3. Walls WD, Azaiez H, Smith RJH. Hereditary Hearing Loss Homepage. Available from: <https://hereditaryhearing-loss.org>. Accessed 2025 Jan 8.
4. Sloan-Heggen CM, Bierer AO, Shearer AE, et al. Comprehensive genetic testing in the clinical evaluation of 1119 patients with hearing loss. *Hum Genet.* 2016;135(4):441-50.
5. Han S, Zhang D, Guo Y, Fu Z, Guan G. Prevalence and characteristics of *STRC* gene mutations (DFNB16): a systematic review and meta-analysis. *Front Genet.* 2021;12:707845.
6. Yasukawa R, Moteki H, Nishio SY, et al. The prevalence and clinical characteristics of *TECTA*-associated autosomal dominant hearing loss. *Genes (Basel).* 2019;10(10):744.

7. Sansović I, Meašić AM, Bobinec A, et al. Spectrum of genetic variants in 306 patients with non-syndromic hearing loss from Croatia. *Croat Med J*. 2024;65(3):198-208.
8. Shearer AE, Kolbe DL, Azaiez H, et al. Copy number variants are a common cause of non-syndromic hearing loss. *Genome Med*. 2014;6:37.
9. Sansović I, Knezević J, Musani V, Seeman P, Barisić I, Pavelić J. GJB2 mutations in patients with nonsyndromic hearing loss from Croatia. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2009;13(5):693-9.
10. Olusanya BO, Davis AC, Hoffman HJ. Hearing loss grades and the International Classification of Functioning, Disability and Health. *Bull World Health Organ*. 2019;97(10):725-8.
11. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwiijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res*. 2002;30(12):e57.
12. Richards S, Aziz N, Bale S, et al.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-24.
13. Human Phenotype Ontology database. Available from: <http://human-phenotype-ontology>. Accessed 2024 Dec 10.
14. Laurent S, Gehrig C, Nospikel T, et al. Molecular characterization of pathogenic OTOA gene conversions in hearing loss patients. *Hum Mutat*. 2021;42(4):373-7.
15. MacDonald JR, Ziman R, Yuen RK, Feuk L, Scherer SW. The Database of Genomic Variants: a curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(Database issue):D986-92.
16. Watanabe K, Nishio SY, Usami SI; Deafness Gene Study Consortium. The prevalence and clinical features of MYO7A-related hearing loss including DFNA11, DFNB2 and USH1B. *Sci Rep*. 2024;14(1):8326.
17. ClinVar. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>. Accessed 2025 Jan 8.
18. Ahmed ZM, Riazuddin S, Aye S, et al. Gene structure and mutant alleles of PCDH15: nonsyndromic deafness DFNB23 and type 1 Usher syndrome. *Hum Genet*. 2008;124(3):215-23.
19. Bonnet C, Riahi Z, Chantot-Bastarud S, et al. An innovative strategy for the molecular diagnosis of Usher syndrome identifies causal biallelic mutations in 93% of European patients. *Eur J Hum Genet*. 2016;24(12):1730-8.
20. Neuhaus C, Eisenberger T, Decker C, et al. Next-generation sequencing reveals the mutational landscape of clinically diagnosed Usher syndrome: copy number variations, phenocopies, a predominant target for translational read-through, and PEX26 mutated in Heimler syndrome. *Mol Genet Genom Med*. 2017;5(5):531-52.
21. Ogorodova N, Stepanova A, Kadyshev V, et al. A comparative evaluation of the genetic variant spectrum in the USH2A gene in Russian patients with isolated and syndromic forms of retinitis pigmentosa. *Int J Mol Sci*. 2024;25(22):12169.
22. Zupan A, Fakin A, Battelino S, et al. Clinical and haplotypic variability of Slovenian USH2A patients homozygous for the c.11864G>A nonsense mutation. *Genes (Basel)*. 2019;10(12):1015.
23. Zampaglione E, Kinde B, Place EM, et al. Copy-number variation contributes 9% of pathogenicity in the inherited retinal degenerations. *Genet Med*. 2020;22(6):1079-87.
24. HGMD. Available from: <http://www.hgmd.cf.ac.uk>. Accessed 2025 Jan 8.
25. LOVD. Available from: <http://www.lovd.nl/3.0/home>. Accessed 2025 Jan 8.
26. Hsu P, Ma A, Wilson M, et al. CHARGE syndrome: a review. *J Paediatr Child Health*. 2014;50(7):504-11.
27. Chen A, Song J, Acke FRE, et al. Otological manifestations in branchiootorenal spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *Clin Genet*. 2021;100(1):3-13.
28. Udagawa T, Takahashi E, Tatsumi N, et al. Loss of Pax3 causes reduction of melanocytes in the developing mouse cochlea. *Sci Rep*. 2024;14(1):2210.
29. Gregorio V, Caparali EB, Shojaei A, Ricardo S, Barua M. Alport syndrome: clinical spectrum and therapeutic advances. *Kidney Med*. 2023;5(5):100631.
30. Acke FRE, De Leenheer EMR. Hearing loss in Stickler syndrome: an update. *Genes (Basel)*. 2022;13(9):1571.
31. Nielsen-Dandoroff E, Ruegg MSG, Bicknell LS. The expanding genetic and clinical landscape associated with Meier-Gorlin syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2023;31(8):859-68.
32. Fancello V, Fancello G, Palma S, et al. The role of primary mitochondrial disorders in hearing impairment: an overview. *Medicina (Kaunas)*. 2023;59(3):608.

Adresa za dopisivanje:

Klinika za dječje bolesti Zagreb, Medicinski fakultet
Sveučilišta u Zagrebu
Zavod za medicinsku i laboratorijsku genetiku, endokrinologiju i dijabetologiju s dnevnom bolnicom
Klaićeva 16, 10 000 Zagreb, Croatia
e-mail: ivonas3010@gmail.com

S U M M A R Y

Genetic etiology of hearing loss in Croatia in individuals negative for GJB2 variants

Ivona Sansović, Ana-Maria Meašić, Adriana Bobinec, Morana Mikloš, Ljubica Odak, Katarina Vulin

Objective: To report on the spectrum and frequency of clinically relevant variants detected in 66 GJB2-negative patients with non-syndromic and 39 patients with syndromic hearing loss who underwent genetic testing at the Children's Hospital Zagreb between April 2019 and December 2024.

Methods: A multiplex ligation-dependent probe amplification method was used to analyze copy number variants in STRC and OTOA genes in 49 patients with non-syndromic hearing loss. Clinical exome sequencing was performed in patients negative for biallelic variants of GJB2, GJB6, OTOA, and STRC genes and patients with syndromic hearing loss, a total of 60.

Results: Biallelic variants in STRC and OTOA genes were not detected, probably due to the small study group and limitations of the applied methods. Clinical exome analysis in eight subjects with non-syndromic hearing loss revealed three autosomal dominant forms: DFNA8/12, DFNA11, and DFNA2A and three autosomal recessive forms: DFNB23/Usher syndrome type 1F, DFNB8/10, and DFNB3. 35 different variants in 21 genes were detected in 29 subjects with syndromic hearing loss, two of which in SIX1 and CHD7 genes were newly described. 19 different syndromes associated with hearing loss were found. 27.5 % (8/29) of positive patients with syndromic hearing loss had Usher syndrome type 2A with the variant c.11864G>A found in 62.5 % (5/8) of patients.

Conclusion: The high prevalence of the c.11864G>A variant in our population is likely due to a founder effect. Considering the heterogeneous etiology of hearing loss, its diagnosis is very complex and challenging, especially in complex syndromic forms where changes in different genes in the same patient can contribute to hearing impairment or its other clinical features.

Key words: HEARING LOSS; EXOME SEQUENCING; MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION; DNA COPY NUMBER VARIATIONS

Dijagnostički prinos kromosomskog mikropostroja u prenatalnom otkrivanju genomskih poremećaja

Feodora Stipoljev^{1,2}, Maja Oroz¹, Tomislav Hafner¹, Ivanka Bekavac Vlatković^{1,3},
Damir Zudenigo¹, Ratko Matijević^{1,3}, Tamara Vuk¹, Ana Mustapić^{1,4}

Cilj istraživanja je odrediti dijagnostički prinos komparativne genomske hibridizacije na mikropostroju (aCGH) u detekciji submikroskopskih promjena ispod razlučivosti svjetlosne mikroskopije, te pojavnost varijanti nepoznatog značenja koje predstavljaju poseban izazov interpretacije rezultata.

Metode su uključivale retrospektivnu analizu rezultata različitih citogenomskih metoda na ukupno 738 uzoraka korionskih resica i plodovih voda. Indikacije za invazivne zahvate obuhvaćale su abnormalan ultrazvuk ploda, visokorizičan biokemijski ili neinvazivni molekularni test probira, te opterećenu reproduktivnu i obiteljsku anamnezu za genomske poremećaje. Kod svih uzoraka provedena je kromosomska analiza. Analiza aCGH provedena je kod 78 uzoraka korionskih resica i 259 uzoraka plodove vode s normalnim kariotipom ili nebalansiranim strukturnim razmještanjima.

Rezultati: U trudnica koje su upućene na biopsiju korionskih resica udio brojčanih i strukturnih varijanti broja kopija iznosio je 56 %, dok je kod onih koje su upućene na amniocentezu bio 27 %. Brojčani kromosomski poremećaji otkriveni su u 32 % plodova, gdje se najveći udio odnosio na trisomiju 21 i 18. Nebalansirana strukturna razmještanja roditeljskog podrijetla nađena su u 19 plodova, balansirane recipročne i Robertsonove translokacije u 14 plodova. Varijante broja kopija kod normalnog kariotipa dobivene su u 14 plodova, sedam je klasificirano kao patogene, a sedam kao varijante nepoznatog značenja. Submikroskopske patološke kao i varijante broja kopija nepoznatog značenja detektirane su u 2,48 % od ukupnog broja trudnoća.

Zaključci: Rutinsko korištenje metode aCGH u prenatalnoj dijagnostici povećalo je dijagnostički prinos detekcije različitih tipova genomskih poremećaja. Kako ipak značajan broj njih ostaje neotkriven, posebice u skupini plodova s višestrukim malformacijama, potrebno je u standardnu praksu uvesti i metode sekvenciranja nove generacije.

Ključne riječi: PRENATALNA DIJAGNOSTIKA; KOMPARATIVNA GENOMSKA HIBRIDIZACIJA; ULTRAZVUK; KONGENITALNE ABNORMALNOSTI

¹Klinika za ginekologiju i porodništvo, Klinička bolnica "Sveti Duh", Sveti Duh 64, 10000 Zagreb

²Medicinski fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, J. Huttlera 4, 31000 Osijek

³Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Šalata 2, 10000 Zagreb

⁴Zdravstveno veleučilište Zagreb, Mlinarska cesta 38, 10000 Zagreb

UVOD

Prenatalna dijagnostika genomskih poremećaja podrazumijeva primjenu različitih citogenetskih tehnika te metoda molekularne citogenetike i genetike kod analize fetalnih uzoraka dobivenih jednom od rutinskih invazivnih tehnika - biopsijom korionskih resica ili amniocentezom. Kultivirane stanice uzoraka plodove vode ili korionskih resica standardno se analiziraju klasičnom citogenetskom analizom. Nedostatci metode odnose se na nemogućnost utvrđivanja submikroskopskih promjena manjih od pet do 10 Mb, nemogućnost utvrđivanja podrijetla strukturnih kromosomskih promjena kao što su prekobrojni marker kromosomi ili nebalansirana razmještanja te rjeđe uspjeh kulture stanica.

Komparativna genomska hibridizacija na mikropostroju (aCGH, engl. *Array Comparative Genomic Hybridization*) predstavlja složenu tehniku molekularne citogenetike koja omogućava rješavanje ograničenja klasične citogenetike. Metoda aCGH temelji se na hibridizaciji uzorka DNA s komplementarnim oligonukleotidnim sondama vezanim na mikropostroj (mikročip). Metoda omogućuje detekciju veoma malih strukturnih promjena, submikroskopskih dobitaka ili gubitaka nasljednog materijala, odnosno nebalansiranih strukturnih razmještanja veličine između 50 i 200 kb. Analiza uključuje interpretaciju varijanti broja kopija (CNV, engl. *Copy Number Variations*) poznate patogenosti. Prednost navedene tehnike nad citogenetskom analizom je i to što ne zahtijeva kultivaciju stanica, već se može direktno koristiti nativno tkivo za izolaciju DNA i izvođenje pretrage (1). No ovom metodom ne mogu se utvrditi balansirana strukturna razmještanja kao što su recipročne translokacije i inverzije, zatim triploidije, osim ako se ne koristi SNP-mikropostroj, te mozaicizmi s udjelom kromosomski abnormalnih stanica manjim od 11 do 30 % (2).

U prenatalnoj dijagnostici metoda aCGH je od iznimnog značaja za određivanje podrijetla nebalansiranih strukturnih promjena i sadržaja gena, definiranje točaka loma kod „naizgled“ balansiranih nositelja strukturnih razmještanja *de novo* podrijetla te utvrđivanje submikroskopskih promjena u slučajevima normalnog fetalnog kariotipa dobivenog klasičnom kariotipizacijom. Međutim, rezultati istraživanja dijagnostičkog prinosa aCGH

metode u slučajevima normalnog fetalnog kariotipa su heterogeni. Klinički značajne varijante broja kopija (CNV, engl. *copy number variation*) nalaze se u oko 0,5 % do 0,8 % trudnica upućenih na invazivnu dijagnostiku isključivo radi dobi majke (3, 4) te između 1,2 % i 7,9 % plodova s abnormalnim ultrazvučnim nalazom (5-7). Nadalje, smjernice za primjenu aCGH metode u prenatalnoj dijagnostici genomskih poremećaja nisu jednoznačne. Američko udruženje opstetričara i ginekologa (ACOG) i Društvo za maternalno-fetalnu medicinu (SMFM) preporučuju obavezno korištenje metode kromosomskih mikropostroja za genetsku evaluaciju ploda s normalnim kariotipom i ultrazvučnim anomalijama (8). U usporedbi, za pacijentice koje se na invazivnu prenatalnu dijagnostiku upućuju zbog drugih indikacija, odnosno kada se radi o normalnom fetalnom ultrasonogramu, ACOG preporučuje provođenje samo jedne metode – ili klasične kariotipizacije G-pruganjem ili aCGH analize. Fiorentino i sur. (3) predlažu aCGH kao prvi test citogenomske analize za sve indikacije, a zatim se ovisno o rezultatu analize eventualno primjenjuju druge dijagnostičke metode.

Određivanjem učestalosti klinički značajnih CNV-ova u ovom istraživanju utvrdili bismo dijagnostički prinos metode aCGH u odnosu na klasičnu kariotipizaciju. Odredit će se i broj detektiranih varijanti nepoznatog značenja (VUS, engl. *variant of uncertain significance*) za koje nije dokazano kliničko značenje i koje predstavljaju izazove u interpretaciji nalaza, posebice u prenatalnoj dijagnostici.

MATERIJALI I METODE

U retrospektivno istraživanje uključili smo podatke 726 trudnica upućenih na invazivnu prenatalnu dijagnostiku u Kliniku za ginekologiju i porodništvo Kliničke bolnice „Sveti Duh“ u razdoblju od siječnja 2020. do prosinca 2024. godine. Indikacije za invazivne zahvate, biopsiju korionskih resica (CVS, engl. *chorionic villus sampling*) ili ranu amniocentezu, bile su: povišeni rizik za kromosomopatije dobiven neinvazivnim prenatalnim testovima analize slobodno cirkulirajuće fetalne DNA u krvi majke (NIPT) ili kombiniranog probira, zbog abnormalnog ultrasonografskog nalaza u prvom ili drugom tromjesečju trudnoće, opterećene obi-

teljske ili osobne anamneze za genomske bolesti, ili starije dobi majke (≥ 35 godina u terminu poroda). Prije provođenja invazivnog zahvata svim trudnicama detaljno je objašnjena svrha invazivnog postupka, potencijalne komplikacije, vrijeme potrebno za dobivanje rezultata te ograničenja postupka, što su i potvrdile pisanim pristankom. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Kliničke bolnice „Sveti Duh“.

Ultrazvučna evaluacija prvog tromjesečja provedena je u razdoblju trudnoće od 11 do 13 tjedana i 6 dana, odnosno pri dužini tjeme-trtica od 45 mm do maksimalno 84 mm. Veličina vratne prozirnosti (VP) određivana je transabdominalnim i/ili transvaginalnim putem. Vrijednosti debljine VP korelirane su s udaljenosti tjeme-trtica i vrijednosti iznad 95. centilne krivulje su smatrane povećanim vrijednostima, odnosno vrijednost iznad 3 mm neovisno o udaljenosti tjeme-trtica. Za procjenu nosne kosti fetusa prikazuju se tri različite linije na razini nosa fetusa: gornja linija predstavlja kožu, donja, koja je deblja i ehogenija od kože iznad nje, predstavlja nosnu kost a treća linija ispred kosti i na višoj razini od kože predstavlja vrh nosa. Smatra se da je nosna kost prisutna ako je ehogenija od kože i odsutna ako nije vidljiva ili je njezina ehogenost ista ili manja od one na koži. Kvalitativna procjena protoka krvi duktus venosus (DV) temeljila se na pojavi a-vala: pozitivno ili odsutno (normalno), obrnuto (nenormalno). U drugom tromjesečju trudnoće indikacije za invazivnu dijagnostiku bili su abnormalni obrasci rasta ploda, odnosno intrauterini zastoj rasta ploda (IUGR) te različiti tipovi strukturalnih anomalija ploda povezanih s genomskim abnormalnostima kao što su srčane greške, malformacije središnjeg živčanog sustava, defekti prednje trbušne stijenke, defekti neuralne cijevi, abnormalnosti gastroabdominalnog i koštanog sustava, lica i vrata, pluća i toraksa, te poremećaji količine plodove vode.

Biopsija korionskih resica izvodi se transabdominalno, između 11. i 14. tjedna trudnoće. Igrom se pod kontrolom ultrazvuka aspirira 15 do 20 mg posteljičnog tkiva (resičasti korion). Rana amniocenteza se izvodila između 15. i 20. tjedna trudnoće. Punkcija se provodi pod kontrolom ultrazvuka u slobodni džep plodove vode i aspirira se do 20 mililitara plodove vode.

Klasična citogenetska analiza uzoraka korionskih resica i plodove vode provedena je prema smjernicama Europskog udruženja citogenetičara (ECA, engl. *European Cytogeneticists Association*) na kromosomskim preparatima bojanim metodom G-pruganja (9). Stanice plodove vode kultiviraju se dugotrajnom kulturom, dok se prilikom kultiviranja stanica korionskih resica primjenjuje kombinacija dviju tehnika: kratkotrajne kulture citotrofoblasta i dugotrajne kulture mezenhimne strome. Fluorescentna *in situ* hibridizacija (FISH, engl. *fluorescence in situ hybridization*) provodi se na kultiviranim ili nativnim uzorcima staničnih suspenzija uz primjenu komercijalno dostupnih sonde, prema uputama proizvođača. Za potrebe aCGH analize DNA je izolirana iz nativnog uzorka korionskih resica ili kulture stanica plodovih voda. Genomsku DNA izolirali smo komercijalnim kitovima QIAamp DNA Mini Kit ili QIAamp DNA Micro Kit (Qiagen Inc., Valencia, CA, USA), prema uputama proizvođača. Metoda aCGH provodila se na platformi SurePrint G3 8x60K CGH u razdoblju od siječnja 2020. godine do studenog 2021. godine te u narednom razdoblju na platformi GenetiSure Cyto 8x60K CGH (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Kao referentni uzorak korišten je komercijalni uzorak DNA odgovarajućeg spola (Agilent Technologies). Rezultati su analizirani računalnim programom CytoGenomics 5.3.0.14. (Agilent). Analiza varijanti provodi se provjerom njihova kliničkog značaja u medicinskim bazama podataka i dostupnoj medicinskoj literaturi. Korištili smo sljedeće baze podataka: DECIPHER, ClinVar, ClinGen, DGV (engl. *Database of Genomic Variants*), gnomAD, UCSC i OMIM. Interpretacija i prijavljivanje CNV provodi se prema smjernicama Američkog udruženja za medicinsku genetiku i genomiku (10). Na temelju kliničkog značaja varijante se klasificiraju kao patogene, vjerojatno patogene, varijante nepoznatog značenja, vjerojatno benigne i benigne. U nalazu aCGH analize prijavljuju se samo varijante patogenog kliničkog značaja i VUS, dok se benigne varijante ne prijavljuju.

REZULTATI

Ukupno smo analizirali 738 uzoraka, od koji su 208, odnosno 28 % bile korionske resice, a 530, odnosno 72 % uzorci plodovih voda. Indikacije za pojedinu vrstu invazivnog zahvata, dob trudnica i gestacijska dob kada se zahvat radio navedeni su u

Tablica 1. Prikaz anamnestičkih podataka i raspodjela indikacija za invazivnu dijagnostiku

	CVS	Amniocenteza
Broj zahvata	208/738 (28 %)	530/738 (72 %)
Dob trudnice	34 (20 – 44)	35 (16 – 48)
Gestacijska dob	13 (11 – 14)	17 (13 – 35)
Indikacija*		
NIPT visokorizičan za T21	58	56
NIPT visokorizičan za T18	8	9
NIPT visokorizičan za T13	3	10
NIPT visokorizičan za 45,X i ostale gonosomopatije	-	20
NIPT visokorizičan za numeričke poremećaje ostalih autosoma	1	7
NIPT visokorizičan za strukturne CNV-ove	-	14
NIPT neinformativan	-	15
Abnormalan ultrazvuk ploda	85	176
Dob majke	-	66
Pozitivna obiteljska anamneza za kromosomopatije	22	52
Povišen kombinirani test probira	4	82
Genetska mutacija u obitelji	27	13

* kod 10 trudnica amniocenteza je provedena zbog sumnje na infekciju i uzorci plodove vode su poslani na PCR analizu

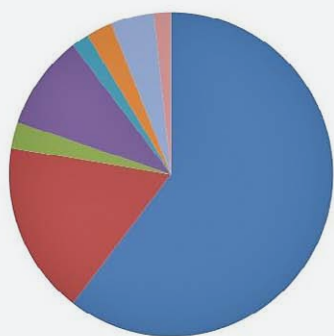
tablici 1. U skupini trudnica kod kojih je dob majke bila jedina indikacija, a koje su upućene na amniocentezu, dobili smo jedan patološki nalaz koji se odnosio na sindrom Down (1/66, 1,51 %). Kod ukupno 40 pacijentica se provelo genetičko testiranje obiteljskih mutacija. Povišen biokemijski test probira, odnosno trostruki ili dvostruki test probira, te u najvećem broju kombinirani test probira uz uredan fetalni ultrazvuk bio je indikacija kod 86 trudnica. Rezultati kromosomske analize pokazali su četiri trisomije 21, dvije trisomije 18, dvije trisomije 13 i dicentrični Yp kromosom (9/86, 10,5 %). Indikacija pozitivne obiteljske anamneze uključivala je jednog od roditelja nositelja strukturnog naoko balansiranog razmještanja (46/74, 62 %) ili obiteljsku/reproduktivnu anamnezu pozitivnu na *de novo* numerički ili strukturni genomski poremećaj- varijante dobitka ili gubitka broja kopija (28/74, 38 %). U 12 plodova analizom je dobiveno balansirano strukturno razmještanje, u 13

nebalansirano, dok su ostali imali normalan kariotip. U skupini trudnica koje su upućene na biopsiju korionskih resica udio numeričkih i strukturnih varijanti broja kopija iznosio je 56 % (116/208) (Slika 1A). Ako isključimo trudnice koje su upućene radi obiteljske patogene mutacije udio je veći i iznosi 64 % (116/181). U skupini trudnica koje su bile na amniocentezi udio numeričkih i strukturnih varijanti broja kopija iznosio je 27 % (142/530), koji se nije značajno promijenio ako isključimo trudnice koje su upućene radi obiteljske patogene mutacije i infekcije u trudnoći (Slika 1B). Raspodjela različitih tipova genomskih poremećaja nađenih nakon biopsije korionskih resica i amniocenteze navedena je u tablici 2.

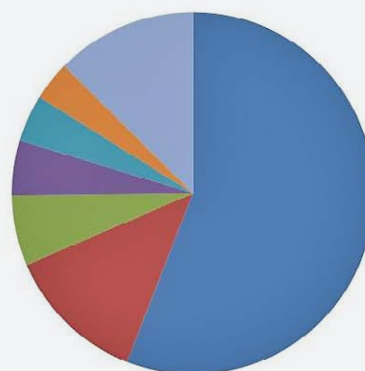
Udio trudnica s visokorizičnim NIPT kao primarnom indikacijom, iznosio je 33,6 % (70/208) u skupini koje su upućene CVS, dok je u skupini trudnica za amniocentezu iznosio 25 % (131/530). Sve trudnice koje su upućene na amniocentezu zbog neinformativnog NIPT su imale normalan nalaz citogenetske i aCGH analize. Rezultati analize i pozitivna prediktivna vrijednost za različite tipove genomskih poremećaja kod visokorizičnog NIPT prikazane su u tablici 3. Rijetki autosomni poremećaji uključivali su trisomije kromosoma 5, 7, 8, 9, 15 i 16 kod trudnica upućenih na amniocentezu. Kod jedne trudnice upućene na CVS, NIPT je pokazao visoki rizik za triploidiju, što je dijagnostičkim metodama isključeno. U tri lažno pozitivna slučaja uputna indikacija je bila visoki rizik za 22q11.2 mikrolelecijski sindrom. Kod trisomije 13, šest potvrđenih nalaza visokorizičnog NIPT imalo je udružene i ultrazvučno detektirane abnormalnosti ploda.

Kod trudnica koje su upućene na biopsiju korionskih resica, kod njih 85 abnormalan ultrazvuk ploda bila je primarna indikacija. Dvadeset i jedan plod imao je izoliranu povećanu vratnu prozirnost i kod njih šest je nađen patološki kariotip. Kod tri ploda s trisomijom 18 uz VP je bio udružen i hidrops. Kod šest plodova uz VP je nađen i DV – A-val, od kojih su tri imala trisomiju 21. Kod tri ploda s omfalokelom radilo se o trisomiji 18. Rani intrauterini zastoje rasta je utvrđen kod tri ploda, od kojih su dva bila triploidna.

Kod 176 trudnica upućenih na amniocentezu primarna indikacija za invazivnu dijagnostiku bio je abnormalan ultrazvuk ploda. Radi izolirane pove-

A) BIOPSIJA KORIONSKIH RESICA

- TRISOMIJA 21
- TRISOMIJA 18
- TRISOMIJA 13
- SINDROM TURNER
- SINDROM KLINEFELTER
- TRIPLOIDIJA
- STRUKTURNI POREMEĆAJI
- RIJETKE TRISOMIJE

B) AMNIOCENTEZA

- TRISOMIJA 21
- TRISOMIJA 18
- TRISOMIJA 13
- SINDROM TURNER
- TRIPLOIDIJA
- SINDROM KLINEFELTER
- STRUKTURNI POREMEĆAJI

Slika 1. Raspodjela brojčanih i strukturnih kromosomskih abnormalnosti dobivenih citogenetskom analizom uzoraka biopsije korionskih resica i plodovih voda

ćane VP u prvom tromjesečju upućene su 33 trudnice od kojih je njih osam imalo patološki kariotip (T21, T18 i jedan strukturni nebalansirani poremećaj). Kod 38 plodova prisutan je bio cistični higrom, a njih osam imalo je udruženu još jednu ili više malformacija. U ovoj skupini dobiveno je 75 % (6/8) patoloških kariotipova (T21, T18, triploidija). Kod ostalih 30 dobiveno je osam patoloških kariotipova (27 % - T18, T21 i dva strukturna razmještanja). Kod septirane ili neseptirane VP koja je bila udružena s hidropsom u 10 plodova, kod četiri dobiven je sindrom Turner, a kod jednog trisomija 18. Kod 16 plodova srčana greška bila je udružena s drugim ekstrakardijalnim malformacijama, dok je kod tri bila izolirana. U skupini plodova sa srčanom greškom udruženom s višestrukim malformacijama 11 je bilo patološkog kariotipa (68,7 %, 11/16). Višestruke malformacije ostalih organskih sustava bile su prisutne kod 70 plodova. Češći ultrazvučni biljezi bili su ventrikulomegalija i drugi tipovi anomalija središnjeg živčanog sustava, zatim omfalokela, intrauterini zastoj rasta, poremećaj količine plodove vode, malformacije lica i anomalije gastro-urinarog trakta. Patološki

kariotip nađen je kod 18 (25,7 %) plodova s višestrukim malformacijama.

Kod normalnog i nebalansiranog kariotipa provela se i aCGH analiza. Postupnik prenatalne analize genomske poremećaja prikazan je na slici 2. Analiziralo se 78 uzoraka korionskih resica: kod njih pet koji su imali nebalansirani kariotip kao posljedicu roditeljskog balansirano strukturnog razmještanja odredila su se mjesta loma i sadržaj gena unutar gubitka ili dobitka kopije. Kod izokromosoma Xq i mozaičnog oblika za prekobrojni marker kromosom definirala se uključenost eukromatinskih regija. Kod jednog normalnog kariotipa dobiven je *de novo* gubitak jedne kopije regije 6p25.1 veličine 207 kb klasificiran kao varijanta nepoznatog značenja. Regija 6p25.1 sadrži četiri gena od čega su dva protein-kodirajuća morbidna gena u bazi OMIM: LYRM4 (MIM*613311) i FARS2 (MIM*611592).

Analiziralo se 259 uzoraka plodove vode aCGH metodom. U 91 % (237/259) smo dobili uredan molekularni kariotip, a u 9 % abnormalan. Kod 10 slučajeva nebalansiranih strukturnih razmješta-

nja, pet roditeljskog podrijetla i pet *de novo* evaluirane su točke loma i sadržaj gena. Kod 12 pacijentica s normalnim kariotipom, aCGH analiza pokazala je promjene broja kopija. Kod šest pacijentica promjene su klasificirane kao patogene. Kod ploda s mikrogmatijom, mikropenisom, oligohidramni-

Tablica 2. Prikaz brojčanih i strukturnih genomskih poremećaja dobivenih klasičnom kariotipizacijom i aCGH analizom

Vrsta genomskog poremećaja	Broj (udio u ukupnom broju zahvata, %)
Brojčani kromosomski poremećaji	
Sindrom Down	150 (20,3)
Sindrom Edwards	38 (5,2)
Sindrom Patau	12 (1,6)
Sindrom Turner	18 (2,4)
Sindrom Klinefelter	6 (0,81)*
Ostali poremećaji broja gonosoma	1 (0,014)**
Triploidija	9 (1,2)
Rijetke trisomije	3 (0,4)***
Strukturne promjene – varijante broja kopija	
Nebalansirane translokacije	15 (2,03)
Ostala nebalansirana strukturna razmještanja	4 (0,5)
Balansirane recipročne i Robertsonove translokacije	14 (1,9)
Varijante broja kopija detektirane aCGH metodom – normalni kariotip	14 (1,9)****
Ukupan broj	283 (38,4)

*1 mozaični oblik; **47,XXX;*** trisomija 5, 9, i 16;

**** 7 VUS i 7 patoloških CNV

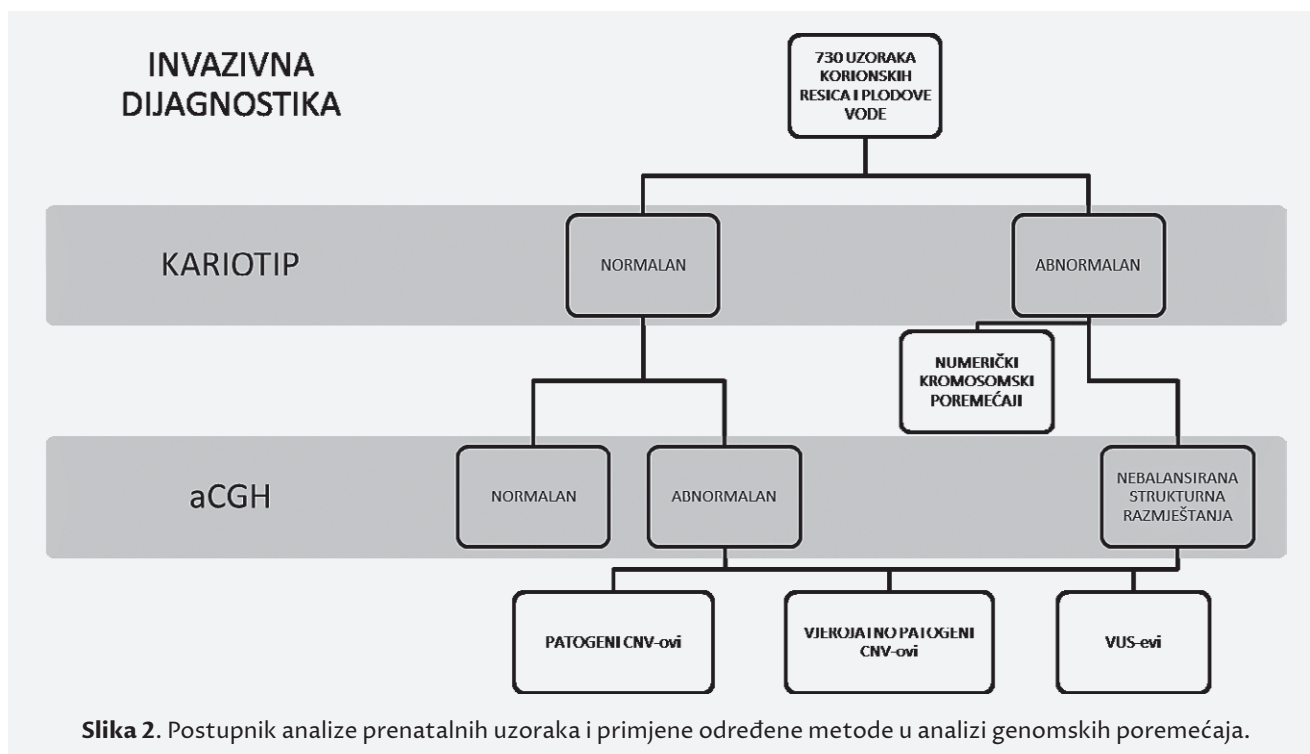
jem i početnim IUGR-om aCGH analiza je pokazala patogeni gubitak jedne kopije regije 22q11.21-q11.22 veličine oko 1 Mb. Nađeni gubitak jedne kopije odgovara mikroleciji distalog dijela regije 22q11.2 tipa 1 s točkama loma LCR22-D do LCR22-E (MIM#611867). Kod ploda s hidrocefalusom aCGH analiza je pokazala patogeni terminalni gubitak jedne kopije regije 6q26-q27 veličine oko 6,9 Mb. Kliničke osobitosti uključuju intrauterini zastoj rasta, mentalnu zaostalost, abnormalnosti središnjeg živčanog sustava i druge kongenitalne anomalije. U jednom slučaju molekularna kariotipizacija pokazala je patogeni gubitak jedne kopije regije 16p11.2 veličine oko 608 kb. Gubitak kopije regije 16p11.2 kod ploda obuhvaća opisanu proksimalnu regiju s točkama loma BP4-BP5 (uključujući gen TBX6) i opisuje se kao proksimalni 16p11.2 mikrolecijijski sindrom (MIM#611913). Dodatno, kod ploda s izodicentrikom 20p, aCGH metodom je nađen i patogeni gubitak jedne kopije regije 18p11.32-11.31 veličine 2,8 Mb, a koja uključuje i heterozigotnu deleciju cijelog gena *TGIF1*, čime se i objašnjava prisutnost fetalne holoprozencefalije. Mogući udruženi klinički značaj mozaičnog oblika izokromosoma 20q ne može se isključiti. Kod ostalih šest pacijentica dobivene varijante klasificirane su prema smjernicama kao varijante nepoznatog značenja, a bile su veličine od 220 kb do 3,6 Mb. Kod pet VUS promjene su bile roditeljskog podrijetla, dok je jedan *de novo* slučaj.

Submikroskopske patološke promjene broja kopija koje nisu detektirane klasičnom citogenetskom analizom, već samo aCGH metodom nađene su u

Tablica 3. Prikaz dijagnostičkih ishoda trudnoća s visokorizičnim NIPT-om

Tip genomskog poremećaja	Broj visokorizičnih NIPT nalaza (CVS + amniocenteza)	Dijagnostička potvrda	Pozitivna prediktivna vrijednost PPV (%)
T21	114	110	96,5
T18	17	13	76,5
T13	13	6	46,2
45,X	8	1*	12,5
47,XXY	4	4	100
47,XXX	1	1	100
Inkonkluzivan za spolne kromosome	7	1**	14,3
Rijetki autosomni numerički poremećaji	7	1 (T8)	14,3
Strukturni CNV-ovi	15	2	13,3
neinformativan	15	0	0

*mozaicizam 45,X/46,XX **nepodudaranje fenotipskog i genotipskog spola, ***trisomija 8 u mozaičnom obliku detektirana aCGH metodom



2,17 % (7/322) trudnoća. Ako isključimo trudnice koje imaju poznate genetske mutacije u obitelji ($n=40$), dijagnostički prinos metode aCGH iznosi 2,48 % (7/282). Kod trudnoća s prisutnim ultrazvučnim malformacijama i normalnim kariotipom dijagnostički prinos je nešto veći i iznosi 3,1 % (5/159). Udio VUS bio je 2,48 % (7/282). Od ukupno 738 uzoraka metodom aCGH utvrđeno je 4,03 % abnormalnih nalaza.

RASPRAVA

Retrospektivno istraživanje obuhvatilo je citogenomsku analizu 738 fetalnih uzoraka, 208 dobivenih biopsijom korionskih resica i 530 uzoraka plodova. U 34,9 % (258/738) plodova klasičnom citogenetskom analizom nađene su strukturne i brojčane kromosomske promjene. U slučaju normalnog kariotipa i nebalansiranih strukturnih razmjestanja, odnosno kod sveukupno 315 uzoraka provedena je i aCGH analiza. Prednost metode aCGH u odnosu na klasičnu citogenetsku analizu prvenstveno se odnosi na mogućnost otkrivanja citogenomskih abnormalnosti ispod razlučivosti mikroskopske analize. Stoga se kod plodova s normalnim kariotipom danas rutinski primjenjuje aCGH analiza. Studije o dijagnostičkom prinosu metode aCGH u odnosu na klasičnu kariotipizaciju pokazuju značajnu varijabilnost, koja se prven-

stveno odnosi na razliku u primjeni aCGH metode ovisno o indikaciji za invazivni zahvat te prisutnosti fetalnih ultrazvučnih biljega. Kod pacijentica upućenih na invazivnu dijagnostiku isključivo radi dobi majke ili anksioznosti dijagnostički prinos metode aCGH iznosi oko 0,5 % do 0,84 % (3, 4). Stosic i sur. preporučuju aCGH analizu kao opcionalnu u slučaju urednog kariograma i kod trudnica s indikacijom kao što su starija dob majke, anksioznost ili povišen rizik dobiven biokemijskim probirom iz krvi majke (6). U studijama gdje se aCGH analiza provodila kod svih trudnica s normalnim fetalnim kariotipom dijagnostički prinos iznosio je oko 1 %–2,5 % (1, 11). U našem istraživanju, gdje je aCGH metoda korištena kod trudnica s normalnim fetalnim kariotipom, a upućenih na invazivni zahvat zbog različitih indikacija, dijagnostički prinos iznosio je 2,48 %. Slični rezultati nalaze se u studijama Callaway i sur. i Wapner i sur. u kojima su klinički značajni CNV-ovi nađeni u 1,5 % i 2,5 % analiza (1, 12). Viši dijagnostički prinosi nalaze se u trudnica s ultrazvučnim abnormalnostima ploda pri čemu se patogeni CNV-ovi nalaze se u oko 6 % do 7 % plodova s normalnim kariotipom (1, 6, 12). Preglednom studijom koja je obuhvatila 18 istraživanja de Wit i sur. navode dijagnostički prinos metode aCGH u rasponu od 3,1 % do 7,9 % u plodova s izoliranim ultrazvučnim abnormalnostima, ovisno o tipu anomalija uključenom u studiju, te pri-

nosom od 9,1 % u plodova s višestrukim abnormalnostima (5). Viši dijagnostički prinos (3,1 %) dobiven je i u našoj studiji. S obzirom na značajan udio trudnoća u kojem se aCGH analizom utvrdi genomski uzrok abnormalnog fenotipa, zaključuje se kako aCGH metoda ima značajnu dijagnostičku i prognostičku vrijednost u trudnoćama s ultrazvučnim abnormalnostima.

Međutim, u velikom broju trudnoća primjenom klasične kariotipizacije i aCGH analize ne utvrdi se genetski uzrok anomalija ploda. Posljednjih godina u svrhu otkrivanja genetskih uzroka fetalnih ultrazvučnih abnormalnosti primjenjuje se metoda egzomskog sekvenciranja (ES) – cjeloegzomskog sekvenciranja (WES, engl. *Whole Exome Sequencing*), kliničkog egzoma ili genskih panela, pri čemu se provodi trio-analiza, odnosno analiza fetalnog uzorka paralelno s uzorcima krvi roditelja. Dijagnostički prinos metode ES nalazi se u rasponu od 8,5 % do 35 % (13, 14). Analizom 1618 prenatalnih uzoraka s normalnim kariotipom i rezultatima aCGH analize, Fu i sur. WES analizom postavljaju dijagnozu u 14,2 % plodova s malformacijama, pri čemu se najviši dijagnostički prinos nalazi u plodova sa skeletnim anomalijama (30,4 %) i višeorganskim abnormalnostima (25,9 %) (13). Slične rezultate nalazimo i u studiji Diderich i sur. koji su primjenom prenatalnog egzomskog panela koji je uključivao 3400 gena, analizom 629 uzoraka patogene i vjerojatno patogene varijante našli kod 14 % plodova s ultrazvučnim abnormalnostima (15). Iz studije su isključene trudnoće s izoliranom VP kao jedinim ultrazvučnim markerom, a kod kojih je provedeno sekvenciranje nove generacije (NGS, engl. *Next Generation Sequencing*) primjenom panela koji uključuje skupinu gena vezanih uz rasopatije. Istraživanjem dijagnostičkog prinosa aCGH metode kod plodova s izoliranom VP, Egloff i sur. od ukupno 720 analiziranih uzoraka u 16,8 % slučajeva nalaze najčešće aneuploidije, u 5,1 % strukturne abnormalnosti uočljive klasičnom kariotipizacijom te u 2,7 % uzoraka klinički značajne CNV-ove detektirane samo aCGH metodom (16). Važnost dijagnostičke primjene NGS metode u slučajevima izolirane VP potvrđuju i rezultati meta-analize Pauta i sur. koje je uključivalo 11 studija (14). U plodova s izoliranom VP i normalnim nalazom klasične kariotipizacije i aCGH analize cjeloegzomskim/cjelogenomskim sekvenciranjem utvrđene su klinički značajne mu-

tacije u 4 % trudnoća, od čega se u 27 % slučajeva radilo o Noonaninomu sindromu.

Prednost aCGH analize u odnosu na klasičnu kariotipizaciju odnosi se i na mogućnost definiranja podrijetla nebalansiranih strukturnih promjena kao što su marker kromosomi i nebalansirane translokacije. Metodom aCGH u takvim slučajevima dobivamo podatke o podrijetlu i veličini promjene te preciznoj poziciji i sastavu gena uključenih u deletiranu ili dupliciranu regiju, na temelju čega se procjenjuje klinička relevantnost navedene promjene te se na temelju analize kliničkih baza podataka dobivaju podatci o utjecaju promjene na fenotipska obilježja ploda. Nadalje, metoda aCGH od iznimne je važnosti za analizu točaka loma kod naoko balansiranih translokacija ili inverzija, u vidu pronalaska submikroskopskih promjena ispod razlučivosti klasične kariotipizacije. U prenatalnoj dijagnostici poseban izazov predstavljaju *de novo* promjene kod kojih rizik pojave kongenitalnih anomalija i neurorazvojnih poremećaja iznosi oko 6 % (17). U našem istraživanju analizom 12 slučajeva balansiranih translokacija nisu nađeni patogeni CNV-ovi u područjima točaka loma. Halgren i sur. aCGH analizom prenatalnih uzoraka kod 32 nositelja naoko balansiranih strukturnih razmještanja također ne nalaze patogene CNV (18). Autori sugeriraju kako aCGH metoda u ovakvim slučajevima ipak ima nisku prognostičku vrijednost, posebice kada je ultrazvučni nalaz ploda normalan, te kao metodu izbora za precizno definiranje točaka loma ističu cjelogenomsko sekvenciranje.

Poseban izazov u prenatalnoj dijagnostici predstavlja interpretacija varijanti nepoznatog kliničkog značenja. Kako bi se smanjio broj prijavljenih VUS Armour i sur. preporučuju graničnu vrijednost od 500 kb za prijavljivanje delecija i 1 Mb za duplikacije (19). Ipak, interpretacija i prijavljivanje CNV ovisi i o genomskoj poziciji i sadržaju gena te se ne može u obzir uzimati samo veličina promjene. U ovom istraživanju VUS su nađeni u 2,48 % trudnoća s normalnim kariotipom te su bili veličine od 220 kb do 3,6 Mb.

ZAKLJUČAK

Povećanje dijagnostičkog prinosa od oko 3 % do 6 %, u prenatalnoj dijagnostici citogenomskih poremećaja pokazuje da aCGH metoda treba biti dio

standardnog testiranja kod trudnica koje su upućene na invazivnu dijagnostiku zbog ultrazvučnih abnormalnosti ploda, bilo kao prvi test ili kao dodatna analiza nakon provedene kariotipizacije (20, 21). No, aCGH metodom ne mogu se utvrditi balansirana strukturna razmještanja, triploidije te mozaicizmi s niskim udjelom kromosomski abnormalnih stanica. Stoga, unatoč brojnim prednostima u usporedbi s klasičnom citogenetskom analizom, tehnika aCGH ne može u potpunosti zamijeniti klasičnu kariotipizaciju. Primjenom klasične kariotipizacije i metode aCGH još uvijek se kod značajnog broja plodova sa strukturnim anomalijama ne otkrije uzrok, što se može dijelom riješiti uvođenjem cjeloegzomskog i cjelogenomskog sekvenciranje u prenatalnu dijagnostiku. Otkrivanje patogenih varijanti na razini gena omogućit će otkrivanje genetskih uzroka i određivanje reproduktivnih rizika, a time odgovarajuće savjetovanje i bolju personaliziranu skrb trudnica.

Kratice:

CNV	- varijante broja kopija (engl. <i>copy number variations</i>)
aCGH	- komparativna genomska hibridizacija na mikropostroju (engl. <i>array comparative genomic hybridization</i>)
SNP	- polimorfizam jednog nukleotida (engl. <i>single nucleotide polymorphism</i>)
VUS	- varijanta nepoznatog značenja (engl. <i>variant of uncertain significance</i>)
CVS	- biopsija korionskih resica (engl. <i>chorionic villus sampling</i>)
NIPT	- neinvazivni prenatalni test probira
VP	- vratna prozirnost (engl. <i>nuchal translucency</i>)
DV	- duktus venosus
FISH	- Fluorescentna <i>in situ</i> hibridizacija (engl. <i>fluorescence in situ hybridization</i>)
ES	- eksomsko sekvenciranje
NGS	- sekvenciranje nove generacije (engl. <i>next-generation sequencing</i>)

LITERATURA

1. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med*. 2012;367(23):2175–2184. doi: 10.1056/NEJMoa1203382.
2. Scott SA, Cohen N, Brandt T, Toruner G, Desnick RJ, Edelman L. Detection of low-level mosaicism and placental mosaicism by oligonucleotide array comparative genomic hybridization. *Genet Med*. 2010;12(2):85–92. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181cc75d0.
3. Fiorentino F, Napoletano S, Caiazzo F, et al. Chromosomal microarray analysis as a first-line test in pregnancies with a priori low risk for the detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *Eur J Hum Genet*. 2013;21(7):725–730. doi: 10.1038/ejhg.2012.253.
4. Srebniak MI, Joosten M, Knapen MFCM, et al. Frequency of submicroscopic chromosomal aberrations in pregnancies without increased risk for structural chromosomal aberrations: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018;51(4):445–452. doi: 10.1002/uog.17533.
5. de Wit MC, Srebniak MI, Govaerts LC, Van Opstal D, Galjaard RJ, Go AT. Additional value of prenatal genomic array testing in fetuses with isolated structural ultrasound abnormalities and a normal karyotype: a systematic review of the literature. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;43(2):139–146. doi: 10.1002/uog.12575.
6. Stosic M, Levy B, Wapner R. The use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2018;45(1):55–68. doi: 10.1016/j.ogc.2017.10.002.
7. Shi X, Tang H, Lu J, Yang X, Ding H, Wu J. Prenatal genetic diagnosis of omphalocele by karyotyping, chromosomal microarray analysis, and exome sequencing. *Ann Med*. 2021;53(1):1285–1291. doi: 10.1080/07853890.2021.1962966.
8. Committee on Genetics and the Society for Maternal-Fetal Medicine. Committee Opinion No.682: Microarrays and next-generation sequencing technology: the use of advanced genetic diagnostic tools in obstetrics and gynecology. *Obstet Gynecol*. 2016;128(6):e262–e268. doi: 10.1097/AOG.0000000000001817.
9. Hastings R, Howell R, Bricarelli FD, Kristoffersson U, Cavani S. General guidelines and quality assurance for cytogenetics. E.C.A. – European Cytogeneticists Association Newsletter. 2012;29. Available from: <https://www.e-c-a.eu/en/GUIDELINES.html>
10. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med*. 2020;22(2):245–257. doi: 10.1038/s41436-019-0686-8.
11. Chong HP, Hamilton S, Mone F, et al. Prenatal chromosomal microarray testing of fetuses with ultrasound structural anomalies: a prospective cohort study of over 1000 consecutive cases. *Prenat Diagn*. 2019;39(12):1064–1069. doi: 10.1002/pd.5545.
12. Callaway JL, Shaffer LG, Chitty LS, Rosenfeld JA, Crolla JA. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conven-

- tional karyotype: a review of the literature. *Prenat Diagn.* 2013;33(12):1119–1123. doi: 10.1002/pd.4209.
13. Fu F, Li R, Yu Q, et al. Application of exome sequencing for prenatal diagnosis of fetal structural anomalies: clinical experience and lessons learned from a cohort of 1618 fetuses. *Genome Med.* 2022;14(1):123. doi: 10.1186/s13073-022-01130-x.
 14. Pauta M, Martinez-Portilla RJ, Borrell A. Diagnostic yield of next-generation sequencing in fetuses with isolated increased nuchal translucency: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2022;59(1):26–32. doi: 10.1002/uog.23746.
 15. Diderich KEM, Bruggenwirth HT, Joosten M, et al. The high diagnostic yield of prenatal exome sequencing followed by 3400 gene panel analysis in 629 ongoing pregnancies with ultrasound anomalies. *Prenat Diagn.* 2024;44(12):1444–1450. doi: 10.1002/pd.6676.
 16. Egloff M, Hervé B, Quibel T, et al. Diagnostic yield of chromosomal microarray analysis in fetuses with isolated increased nuchal translucency: a French multicenter study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;52(6):715–721. doi: 10.1002/uog.18928.
 17. Warburton D. De novo balanced chromosome rearrangements and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: clinical significance and distribution of breakpoints. *Am J Hum Genet.* 1991;49(5):995–1013.
 18. Halgren C, Nielsen NM, Nazaryan-Petersen L, et al. Risks and recommendations in prenatally detected de novo balanced chromosomal rearrangements from assessment of long-term outcomes. *Am J Hum Genet.* 2018;102(6):1090–1103. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.04.005.
 19. Armour CM, Dougan SD, Brock JA, et al.; On behalf of the Canadian College of Medical Geneticists. Practice guideline: joint CCMG-SOGC recommendations for the use of chromosomal microarray analysis for prenatal diagnosis and assessment of fetal loss in Canada. *J Med Genet.* 2018; 55(4):215–221. doi: 10.1136/jmedgenet-2017-105013.
 20. Mitrakos A, Kosma K, Makrythanasis P, Tzetis M. Prenatal chromosomal microarray analysis: does increased resolution equal increased yield? *Genes.* 2023;14(8):1519. doi: 10.3390/genes14081519.
 21. Wójtowicz A, Kowalczyk K, Szewczyk K, et al. Array comparative genomic hybridization (aCGH) results among patients referred to invasive prenatal testing after first-trimester screening: a comprehensive cohort study. *Diagnostics.* 2024;14(19):2186. doi: 10.3390/diagnostics14192186.

Adresa za dopisivanje:

Dr.sc. **Ana Mustapić**, mag.biol.mol.
 Odjel za laboratorijsku citogenetiku, Klinika za ginekologiju i porodništvo
 Klinička bolnica „Sveti Duh“
 Sveti Duh 64, 10000 Zagreb
 e-mail: avicic@kbsd.hr

S U M M A R Y

Diagnostic contribution of comparative genomic hybridization on microarrays in prenatal detection of genomic disorders

Feodora Stipoljev, Maja Oroz, Tomislav Hafner, Ivanka Bekavac Vlatković,
Damir Zudenigo, Ratko Matijević, Tamara Vuk, Ana Mustapić

The aim of the study was to determine the diagnostic yield of array comparative genomic hybridization (aCGH) in detecting submicroscopic changes, as well as the occurrence of variants of uncertain significance (VUSs).

Methods included a retrospective results analysis obtained from various cytogenomic techniques on a total of 738 samples obtained by chorionic villus sampling and amniocentesis. Indications for invasive procedures included abnormal fetal ultrasound, high-risk biochemical or non-invasive screening tests, and a positive medical history for genomic disorders. Karyotyping was performed on all samples. aCGH analysis was conducted on 78 chorionic villi samples and 259 amniotic fluid samples with normal karyotype or unbalanced structural rearrangements.

Results: Among women referred for chorionic villus sampling and amniocentesis, numerical and structural chromosomal aberrations were found in 56 % and 27 % of cases, respectively. Numerical chromosomal abnormalities were detected in 32 % of fetuses, with the highest proportion of trisomy 21 and 18. Unbalanced structural rearrangements of parental origin were found in 19 fetuses, while balanced reciprocal and Robertsonian translocations were identified in 14 cases. Copy number variants (CNVs) in fetuses with a normal karyotype were found in 14 cases, of which seven were classified as pathogenic and seven as VUS. Submicroscopic pathological changes, as well as VUSs, were detected in 2.48 % of cases.

Conclusions: The use of aCGH in prenatal diagnostics has increased the diagnostic yield for CNV detection. However, a significant number of abnormalities remain undetected, particularly in fetuses with multiple malformations, suggesting the implementation of next-generation sequencing into standard practice.

Key words: PRENATAL DIAGNOSIS; COMPARATIVE GENOMIC HYBRIDIZATION;
ULTRASONOGRAPHY; CONGENITAL ABNORMALITIES

Liječenje pacijenata s ahondroplazijom u Republici Hrvatskoj – prva iskustva i rezultati

Mijana Kero*

Ahondroplazija (ACH) je autosomno dominantni genetski poremećaj čija je primarna značajka neproporcionalno nizak rast uz uredan kognitivni razvoj. Prosječna konačna visina odraslih muškaraca s ACH je 130 cm, a žena 125 cm. Osobe s ACH zbog komplikacija osnovne bolesti imaju oko 10 godina kraći prosječni životni vijek u odnosu na opću populaciju. Najteže komplikacije bolesti koje utječu na skraćenje životnog vijeka su povećan rizik od iznenadne smrti u djetinjstvu zbog moguće kompresije medule u području kraniocervikalnog spoja, a u odrasloj dobi kardiovaskularne bolesti i pretilost. Dosadašnje liječenje bolesnika s ahondroplazijom bilo je isključivo simptomatsko i kao takvo nije imalo utjecaja na poboljšanje tjelesnih funkcija niti kvalitete života. Od siječnja 2024. godine u Republici Hrvatskoj se provodi liječenje pacijenata s ACH lijekom vosoritid koji ciljano djeluje na uzrok bolesti, odnosno na poremećaj enhondralne osifikacije uzrokovan mutacijom u genu *FGFR3*. Vosoritid je trenutačno jedina specifična terapijska mogućnost u liječenju ahondroplazije razvijena zahvaljujući razumijevanju patogeneze bolesti s dokazanim pozitivnim učinkom i prihvatljivim sigurnosnim profilom.

Ključne riječi: AHONDROPLAZIJA; RECEPTOR, FAKTOR RASTA FIBROBLASTA, TIP 3; NATRIURETSKI PEPTID, C-TIP

UVOD

Ahondroplazija (ACH) je rijetka autosomno dominantna genetska bolest koju obilježava poremećen rast kostiju te posljedično disproporcionalno nizak rast s nizom ozbiljnih simptoma i komplikacija koje se razvijaju tijekom života (1 – 3). To je najčešća koštana displazija čija je glavna značajka izrazito nizak rast s rizomelično skraćenim ekstremitetima te klinički prepoznatljivim fenotipom zbog kojeg pacijenti imaju brojna fizička ograničenja u svakodnevnom životu. Identifikacija heterozigotne patogene varijante u genu za receptor faktora rasta fibroblasta tipa 3 (*FGFR3*, engl. fi-

broblast growth factor receptor type 3) predstavlja definitivnu genetsku potvrdu ove bolesti. Oko 98 % slučajeva ahondroplazije rezultat su promjene u istom paru baza *FGFR3*, odnosno patogene varijante c.1138G>A, a oko 1 % slučajeva rezultat je patogene varijante c.1138G>C (1, 3). Otprilike 80 % osoba s ACH ima zdrave roditelje, odnosno ima bolest kao rezultat de novo patogene varijante u genu *FGFR3* (1, 4). Patogene *FGFR3* varijante rezultiraju pojačanjem funkcije receptora (engl. gain of function), odnosno stalnom aktivacijom signalnog puta mitogenom aktiviranih protein kinaza, tzv. MAPK (engl. mitogen-activated protein kinase) i ERK (engl. extracellular signal-regulated

* Klinički bolnički centar Split, Klinika za dječje bolesti, Zavod za hematologiju, onkologiju i genetiku, Spinčićeva 1, 21 000 Split

kinase) signalnog puta, izvorno nazvanih kinaze regulirane izvanstaničnim signalom, što izravno utječe na proliferaciju i diferencijaciju hondrocita u smislu inhibicije procesa enhondralne osifikacije u oboljelih (3, 5).

KLINIČKA SLIKA

Ahondroplazija je najčešći uzrok disproporcionalno niskog rasta. Javlja se oko 1 : 20 000 do 1 : 30 000 živorođene djece godišnje, neovisno o spolu ili rasi. Ukupno 360 000 pojedinaca diljem svijeta ima ovu rijetku bolest. Prevalencija u svijetu je 4,73 slučaja na 100 000 pojedinaca. Najopsežnija europska populacijska epidemiološka studija utvrdila je prevalenciju od 3,62 na 100 000 rođenih (6, 7).

Oboljele osobe imaju rizomelično skraćanje udova, makrocefaliju, karakteristične crte lica s izbočenim čelom i hipoplazijom središnjeg dijela lica, kratke prste s tipičnim znakom trozupca te uzak prsni koš. Zbog hipotonije u djetinjstvu imaju usporen motorički razvoj dok je intelektualni razvoj obično uredan. Prosječna konačna visina odraslih muškaraca s ACH je 130 cm (odnosno od 120 do 145 cm), a žena 125 cm (odnosno od 115 do 137 cm), što odstupa za - 6 do - 7 standardnih devijacija u odnosu na standardne krivulje rasta zdravih osoba (1, 3, 4, 8, 9). Bolest ima, osim fenotipskih specifičnosti, prepoznatljive radiološke karakteristike, kao što su: rizomelično (proksimalno) skraćanje dugih kostiju (kratke robusne tubularne kosti), sužena interpedunkularna udaljenost u području kaudalne kralježnice, pravokutno formirana krila ilijačnih kostiju, (vodo)ravni acetabuli, proksimalna femoralna radiolucencija, karakterističan oblik distalne femoralne epifize, torakolumbalna kifoza te kratke proksimalne i srednje falange (4, 10). Koštane manifestacije bolesti uzrokuju i komplikacije: neurološke (stenoza foramina magnuma, lumbalna radikulopatija), otorinolaringološke, plućne (restriktivna plućna bolest) i psihološke.

S obzirom na moguće komplikacije bolesti, osobe s ACH imaju oko 10 godina kraći prosječni životni vijek u odnosu na opću populaciju (11 - 13). Komplikacije koje utječu na skraćanje životnog vijeka su povećan rizik od iznenadne smrti u djetinjstvu zbog moguće kompresije medule u području kraniocervikalnog spoja, a u odrasloj dobi kardio-

vaskularni problemi i pretilost. Dodatne komplikacije osnovne bolesti uključuju: opstruktivnu apneju tijekom spavanja, restriktivnu i opstruktivnu plućnu bolest, disfunkciju srednjeg uha, kifozu, spinalnu stenozu, iskrivljenje koljena te značajna psihička i fizička ograničenja vezana uz niski rast. Najviša stopa mortaliteta je u dobi do 4. godine života zbog rizika kompresije moždine u području kraniocervikalnog prijelaza (4, 8). Zbog svega navedenog ACH zahtijeva multidisciplinarno praćenje od trenutka postavljanja dijagnoze s ciljem prevencije i ranog prepoznavanja komplikacija kako bi se poboljšala kvaliteta života i spriječile fatalne posljedice kod oboljelih (1, 4, 6, 10). Multidisciplinarna skrb trebala bi se pružati u referentnom centru koji se bavi rijetkim bolestima ili u ustanovi koja ima iskustva u liječenju ACH (4). Preporuke prvog europskog konsenzusa za ACH i preporuke međunarodnog konsenzusa objavljene 2021. godine, naglašavaju ovaj aspekt u praćenju, posebno za prve 2 godine života (6, 10). Multidisciplinarni tim obuhvaća različite stručnjake, kao što su neurokirurg, neuropedijatar, pedijatar endokrinolog, primarni pedijatar, diabetolog, nutricionist, neurolog, fizijatar, ORL specijalist, dječji ortoped, ortoped/kirurg, psiholog, psihijatar, pulmolog, fizioterapeut, radni terapeut te genetičar, koji su dio holističkog, cjeloživotnog liječenja i praćenja bolesnika s ahondroplazijom.

Praćenje pacijenata započinje s antropometrijskim procjenama koje uključuju težinu, visinu, visinu pri sjedenju, opseg glave i raspon ruku uz usporedbu dobivenih vrijednosti sa specifičnim tablicama za osobe s ACH (9). Od rođenja do 2. godine života potrebno je često praćenje pacijenta, svaka dva do četiri mjeseca, s obzirom na učestalost po život opasnih komplikacija u ovom životnom periodu. S obzirom na to da se baza lubanje razvija enhondralnom osifikacijom, anomalije kraniocervikalnog spoja i neurološke komplikacije su česte (6, 10). Također postoji povećani rizik od centralne apneje za vrijeme spavanja, iako je opstruktivna apneja češća zbog povećanja krajnika, glosoptoze i labavosti stijenke ždrijela i laringa. Zbog navedenog se u prvoj godini života savjetuje učiniti polisomnografiju (14, 15). Asimptomatska ventrikulomegalija ne zahtijeva liječenje za razliku od hidrocefalusa koji je moguća, ali rijetka komplikacija bolesti, pa je u prvoj godini života potrebno češće mjeriti opseg glave, barem svaka

2 do 4 mjeseca. Pretjerani rast opsega glave uz neurološke simptome (povraćanje, napeta fontanela, hipertonus mišića, produljena apneja, bradikardija) može biti znak kraniocervikalne kompresije ili hidrocefalusa (10). Što se tiče slikovnih pretraga, magnetska rezonancija (MRI), u odnosu na CT, omogućuje bolju izravnu vizualizaciju moždanog debla i gornjeg cervikalnog dijela leđne moždine, a može dokazati dinamičku kompresiju moždine i promjenu protoka cerebrospinalne tekućine (16). Slikovne pretrage (poželjno MRI) preporučuje se učiniti u dobi od 6 mjeseci do 1 godine te u slučaju navedenih neuroloških simptoma (10). Prva klasifikacija za procjenu težine promjena u području stenoze foramen magnuma temeljena na MRI objavljena je 2021. godine, tzv. *Achondroplasia Foramen Magnum Score* (AFMS) (16). U slučaju promjena na cervikomedularnom području, patološke polisomnografije ili neuroloških simptoma, indicira se liječenje s iskusnim neurokirurškim te kvalificiranim anesteziološkim timom (4). Djeca s ACH zbog posebnosti njihove građe, hipotonije i hiperobilnih zglobova imaju usporen motorički razvoj, kasnije počinju sjediti, a samostalno prohodaju oko 20. mjeseca života (15). Radi navedenog, preporučuje se rano uključivanje u rehabilitacijske postupke pri čemu je važno uzeti u obzir specifičnosti ove bolesti, kao što su primjerice: izbjegavanje puzanja ili potreba za uporabom posebnog pribora pri procjeni fine motorike. U razvoju autonomije i interpersonalnih vještina važno je poticati stjecanje pozitivne i zdrave slike o sebi, sposobnosti prilagodbe okolini, stjecanje koordinacije i motoričke kontrole u igri i aktivnostima svakodnevnog života. U ranom periodu života jedan od najčešćih problema je torakolumbalna kifoza (90 - 95 %) zbog čega je važna potpora leđima dok se ne razvije tonus mišića u trupu. Blaga torakolumbalna kifoza obično se popravlja kada dijete počne hodati. Djeca s perzistentnom kifozom (10 %) imaju povećan rizik od lumbalne stenoze/neuropatije u kasnijoj dobi (10, 15).

Od 2. do 13. godine kliničke evaluacije se preporučuju svakih 6 do 12 mjeseci uz individualizirani pristup i obavezna antropometrijska mjerenja pri svakom pregledu. Do dobi od 1 godine prosječna godišnja brzina rasta u djece s ahondroplazijom se smanji na 7,4 cm godišnje u djevojčica i 7,1 cm godišnje u dječaka. U djece s ahondroplazijom u dobi

od 2 do 10 godina srednja godišnja brzina rasta je 4 - 5 cm (u usporedbi s 5 - 7 cm u djece prosječne visine). Oko dobi od 10 godina prosječna godišnja brzina rasta se smanji na 3,6 cm godišnje za oba spola. Pubertetski zamah rasta tijekom adolescencije je odsutan u djece s ahondroplazijom, a rast se nastavlja postupno opadajućim tempom do postizanja konačne visine (17, 18). Važno je stalno praćenje znakova i simptoma cervikomedularne kompresije. S ortopedske strane preporučuje se kontinuirano praćenje torakolumbalne kifoze i lumbalne hiperlordoze. U 40 - 70 % pacijenata javlja se deformitet tipa genu varum s torzijom tibije koji može uzrokovati mehaničku bol, poremećaj hoda i ograničenje tjelesne aktivnosti (19). Potrebna su redovita otorinolaringološka i audiološka praćenja, te povremena polisomnografija i procjena pulmologa zbog apneja (4, 15).

U adolescenciji i ranoj odrasloj dobi procjene su individualizirane i obuhvaćaju procjenu metabolizma (pretilost), oralnog zdravlja, problema s ušima, nosom i grlom (apneje, sluh), ortopedskih komplikacija i neuroloških simptoma povezanim sa spinalnom stenozom. Debljina je čest komorbiditet koji se razvija rano zbog ograničenja u tjelesnoj aktivnosti, sklonosti stalnom jelu i nižem bazalnom metabolizmu zbog čega je važna prevencija i praćenje tjelesne mase te indeksa tjelesne mase pri svakom posjetu. Pretilost pogoršava neurološke i ortopedske probleme i apneju te povećava vjerojatnost kardiovaskularnih bolesti koje su glavni uzrok smrti kod odraslih osoba s ACH. U ovom periodu preporučuje se s pacijentima razgovarati o eventualnom prenatalnom testiranju, trudnoći i njezinim mogućim komplikacijama (restriktivna bolest pluća, kardiovaskularna bolest, komplikacije anestezije) te preporuci poroda carskim rezom. Psihološka podrška bitan je dio praćenja bolesnika s ACH u svim razdobljima života (4, 6, 10, 15, 20).

LIJEČENJE

Dosadašnje mogućnosti liječenja ove bolesti dominantno su bile u domeni kirurških intervencija (operacije dekompresije stenoze foramen magnum, ventrikuloperitonealni šantovi, miringotomija, tonzilektomija i adenoidektomija, liječenje lumbalne spinalne stenoze, ortopedski zahvati), u smislu liječenja komplikacija bolesti, s obzirom na

činjenicu da nije postojala specifična terapijska mogućnost. Ortopedski zahvati elongacije udova s različitim pristupima su invazivni i imaju velik rizik za razvoj komplikacija (4, 21). Glavni ciljevi dosadašnje skrbi su bili predviđanje, otkrivanje i liječenje komplikacija te podrška samostalnosti i kvaliteti života ovih pacijenata.

Europska agencija za lijekove (EMA, engl. *European Medicines Agency*) je 24. siječnja 2013. godine vosoritid uvrstila skupinu „orphan“ lijekova, tj. medicinskih proizvoda namijenjenih za prevenciju i terapiju rijetkih bolesti (EU/3/12/1094). Vosoritid je biološki analog natriuretskog peptida C-tipa (CNP, engl. *type C natriuretic peptide*), snažnog stimulatora endohondralne osifikacije. Njegovo se djelovanje bazira na regulaciji unutarstaničnog signalnog puta receptora FGFR3. Vezanjem na natriuretski peptidni receptor tipa B (NPR-B, engl. *natriuretic peptide receptor B*), inhibira MAPK signalni put, aktiviran produktom patogene varijante gena *FGFR3*. Kao rezultat toga, vosoritid, poput CNP-a, djeluje kao pozitivni regulator rasta endohondralne kosti, potiče proliferaciju i diferencijaciju hondrocita, a u odnosu na prirodni CNP ima produljeni poluživot u plazmi (22 - 24). To vosoritid čini prvom ciljanom farmakoterapijskom opcijom u liječenju bolesnika s ahondroplazijom koja je razvijena zahvaljujući razumijevanju patogeneze bolesti, a rezultati dosadašnjih kliničkih ispitivanja podupiru uporabu ovog lijeka u liječenju ACH (25 - 27). Prema rezultatima provedenih kliničkih studija, vosoritid se pokazao učinkovitim u povećanju stope rasta u djece s ahondroplazijom u dobi od 4 mjeseca i starije kod kojih nisu zatvorene epifizne ploče rasta, što može povećati njihovu konačnu visinu i omogućiti lakše obavljanje svakodnevnih aktivnosti. Liječenje vosoritidom dosljedno je povezano s većim brzinama rasta kod dječaka i djevojčica s ACH u dobi od 6 do 16 godina s prosječnim porastom od 1,55 cm godišnje kod djevojčica i 1,98 cm godišnje kod dječaka. Nije primijećen jasan pubertetski zamah rasta (28, 29). Nedostatak bilo kakvog ubrzanja koštane zrelosti mjereno koštanom dobi ukazuje na to da lijek ne skraćuje ukupno trajanje razdoblja rasta dok povećava godišnju brzinu rasta za 1,35 cm godišnje u dobi od 5 do 14 godina (22, 30). U djece s ACH u dobi od 0 do 5 godina, poboljšanje visine bilo je u skladu s poboljšanjem uočenim nakon jednogodišnjeg liječenja u djece starije od 5 godina

(17, 18). Sve nuspojave opisane u kliničkim ispitivanjima, kategorizirane su kao blage i nisu zahtijevale prekid liječenja, a sigurnosni profil u djece mlađe od 5 godina sličan je onom u starije djece. Na temelju navedenog EMA je u rujnu 2023. odobrila vosoritid za liječenje pacijenata s ACH potvrđenom genetskim testiranjem u dobi od 4 mjeseca života i starijih kod kojih nisu zatvorene epifizne ploče rasta na području Europske unije. Lijek se daje jednom dnevno potkožnom injekcijom, a preporučena doza temelji se na tjelesnoj masi bolesnika i iznosi između 15 - 30 µg /kg/dan pri čemu se viša doza daje najmanjoj djeci. Tijekom liječenja potrebno je u intervalima od 3 do 6 mjeseci pratiti pacijente radi provjere tjelesne mase, tjelesne visine, godišnje brzine rasta i tjelesnog razvoja. Liječenje ovim lijekom treba prekinuti kad se potvrdi da nema daljnjeg potencijala rasta, na što ukazuje brzina rasta manja od 1,5 cm godišnje i zatvaranje epifiznih ploča rasta (31).

LIJEČENJE DJECE SA AHONDROPLAZIJOM U REPUBLICI HRVATSKOJ

U Republici Hrvatskoj se trenutačno u različitim zdravstvenim ustanovama prati 26 bolesnika u dobi ispod 18 godina s postavljenom dijagnozom ACH. Među njima je 20 pacijenata koji zadovoljavaju kriterije za primjenu vosoritida dok preostalih 6 pacijenata više ne zadovoljava kriterije za primjenu vosoritida, jer su kod njih epifizne ploče rasta zatvorene i stoga kod njih više nema potencijala rasta. Liječenje bolesnika s ahondroplazijom se provodi pod stručnim vodstvom pedijataru genetičara i endokrinologa u Kliničkom bolničkom centru Zagreb pri Referentnom centru Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za medicinsku genetiku i metaboličke bolesti djece i novorođenački probir, Kliničkom bolničkom centru Split pri

Tablica 1. Raspodjela pacijenata s ACH po dobnim skupinama.

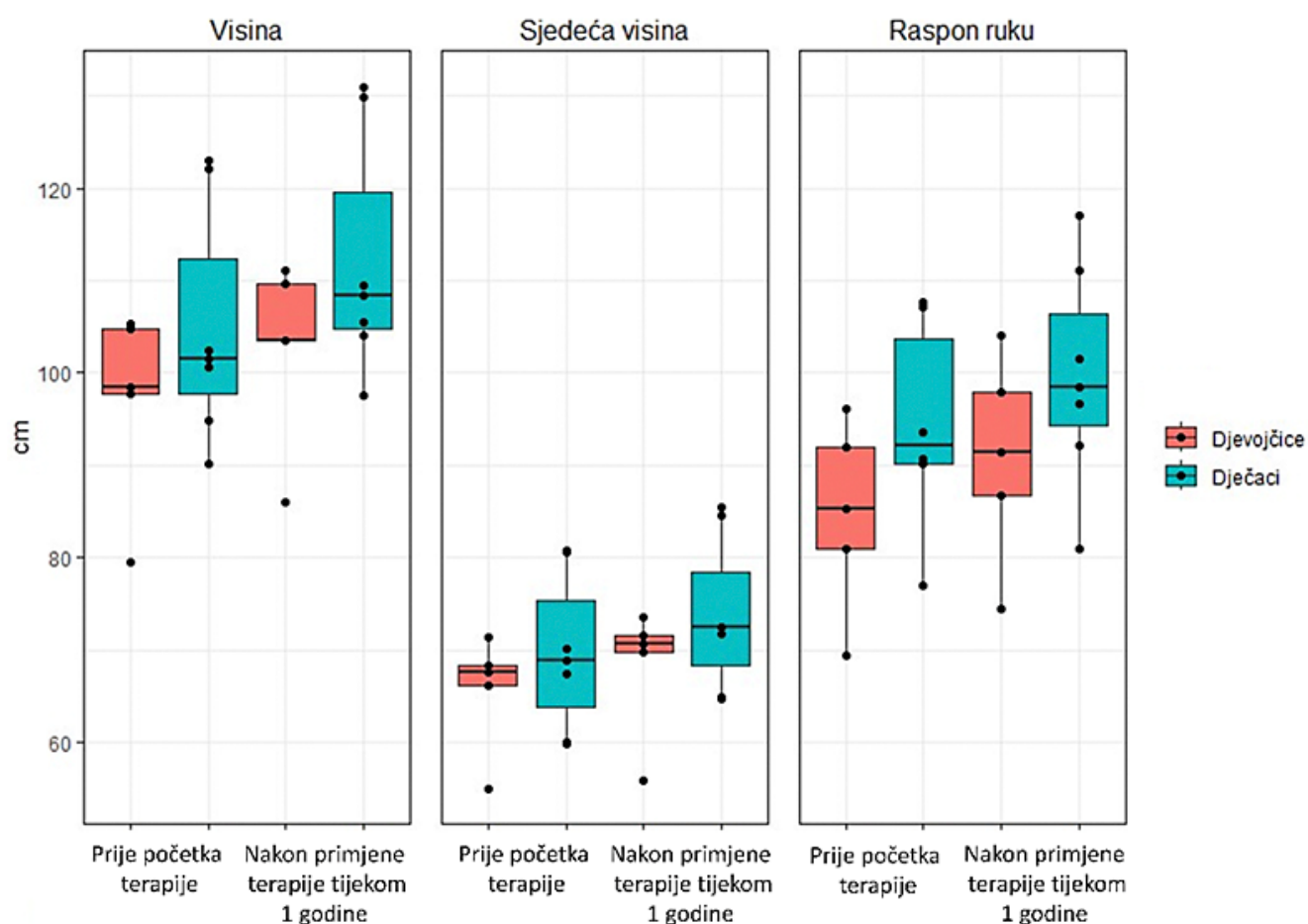
Dobne skupine (godine)	N
1 - 4	2
5 - 7	3
8 - 10	7
11 - 14	2
15 - 18	1

N – broj pacijenata

Tablica 2. Antropometrijska mjerenja prije terapije i nakon godinu dana korištenja terapije Vosoritidom.

Spol	Dob (godine)	Visina prije terapije (cm)	Visina nakon primjene terapije tijekom 1 godine (cm)	Sjedeća visina prije terapije (cm)	Sjedeća visina nakon primjene terapije tijekom 1 godine (cm)	Raspon ruku prije terapije (cm)	Raspon ruku nakon primjene terapije tijekom 1 godine (cm)
M	6	90,2	97,5	60,1	64,8	77	80,9
Ž	10	105,3	109,7	71,4	73,6	92	98
Ž	4	79,6	86,1	55	55,9	69,5	74,4
Ž	9	104,8	111	67,7	71,6	96,2	104
Ž	8	97,7	103,5	66,2	69,7	85,3	91,4
M	7	94,9	104,1	59,8	64,9	/	101,6
M	11	102,5	109,4	70,1	72,5	90,7	96,7
M	9	100,6	105,5	68,9	72,5	90,1	92,1
M	13	122,1	131	80,6	84,5	107,6	117
M	16	123,0	129,9	80,7	85,4	107,1	111,1
Ž	10	98,4	103,6	68,3	70,7	81	86,7
M	10	101,5	108,4	67,5	71,7	93,6	98,4

M - muški spol; Ž - ženski spol

**Slika 1.** Usporedba antropometrijskih mjera prije terapije i nakon godinu dana primjene terapije vosoritid.

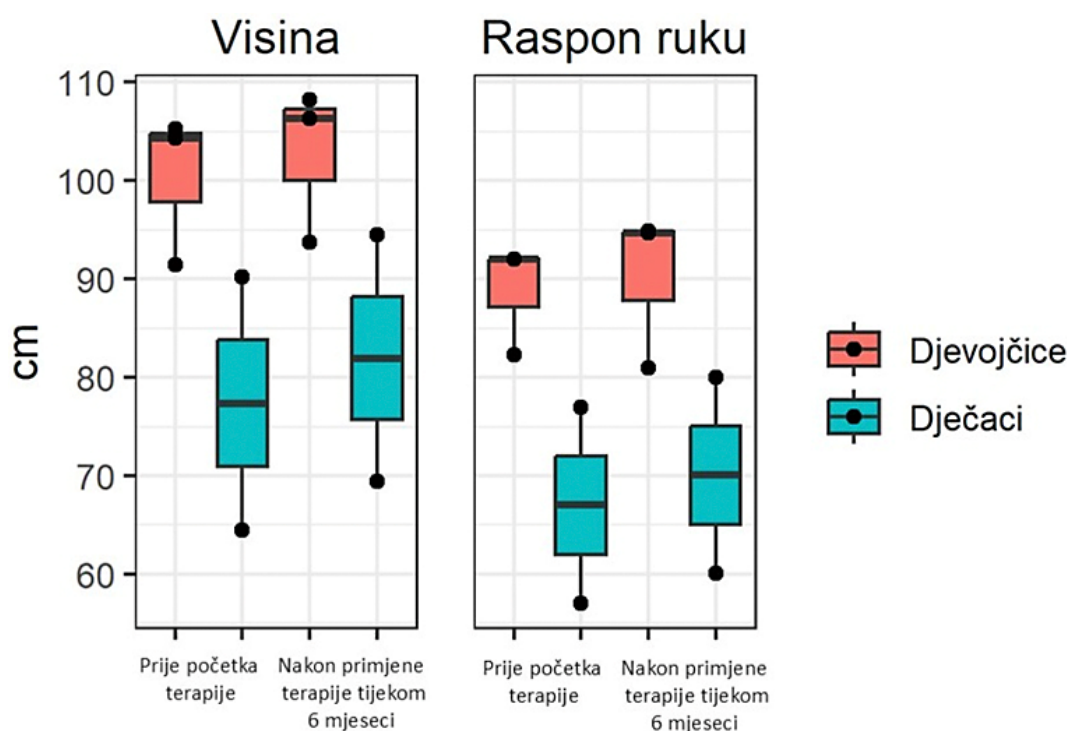
Zavodu za hematologiju, onkologiju i genetiku, Klinici za dječje bolesti Zagreb pri Referentnom centru Ministarstva zdravstva Republike Hrvat-

ske za praćenje kongenitalnih anomalija te u KBC Rijeka pri Klinici za pedijatriju. U istim ustanovama provodi se multidisciplinarno kliničko praćenje i li-

Tablica 3. Antropometrijska mjerenja prije terapije i nakon 6 mjeseci terapije Vosoritidom.

Spol	Dob (godine)	Visina prije terapije (cm)	Visina nakon 6 mjeseci terapije (cm)	Raspon ruku prije terapije (cm)	Raspon ruku nakon 6 mjeseci terapije (cm)
M	1	64,5	69,4	57	60,1
Ž	10	104,3	106,3	92	94,9
Ž	5,5	91,4	93,7	82,3	81
M	6	90,2	94,5	77	80
Ž	10	105,3	108,2	92	94,7

M - muški spol; Ž - ženski spol

**Slika 2.** Usporedba antropometrijskih mjera prije početka terapije i nakon 6 mjeseci primjene vosoritida.

ječenje bolesnika s ACH. Hrvatske klinike slijede međunarodne preporuke za liječenje objavljene 2019. godine (Pauli i sur.), smjernice sukladne Izjavi međunarodne suglasnosti koju su 2021. objavili Savarirayan i suradnici te Europske smjernice za ahondroplaziju (3, 6, 10).

Rezultati liječenja su dostupni za ukupno 15 pacijenata s ACH od kojih je osam dječaka (53,3 %) i sedam djevojčica (46,7 %) (Tablica 1).

Dječaci u dobnoj skupini od 6 do 16 godina (njih 7) imali su prosječnu godišnju brzinu rasta 7,3 cm, a djevojčice u istoj dobnoj skupini (njih 4) imale su prosječnu godišnju brzinu rasta 5,4 cm. U dobnoj skupini od 1 do 5 godina smo je jedna djevojčica koja je do sada liječena godinu dana i narasla je 6,5 cm (Tablica 2, Slika 1.).

Rezultati liječenja pacijenata koji su na terapiji vosoritidom 6 mjeseci, pokazuju povoljan polugodišnji prirast na tjelesnoj visini (Tablica 3, Slika 2).

Anamnestički podaci govore o pojačanoj fizičkoj izdržljivosti i manje izraženim bolovima u ekstremitetima otkako se provodi liječenje vosoritidom u usporedbi s razdobljem prije primanja terapije. Klinički se kod nekih pacijenata vidi manje izražena lumbalna lordoza te blagi pomak ka ispravljanju deformiteta nogu. Do sada nije zabilježeno neželjenih reakcija na lijek.

ZAKLJUČAK

Prva iskustva i rezultati liječenja bolesnika s ahondroplazijom u RH sukladna su navedenim rezultatima kliničkih studija ispitivanja učinkovi-

tosti i sigurnosti lijeka (17, 28 – 30, 32). Na temelju navedenih studija, u svih 20 bolesnika s ACH u RH koji zadovoljavaju kriterije za primjenu terapije vosoritidom očekuje se zadovoljavajuće liječenje.

LITERATURA

- Legare JM. Achondroplasia. 1998 Oct 12 [Updated 2023 May 11]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1152/>
- Foreman PK, van Kessel F, van Hoorn R, van den Bosch J, Shediach R, Landis S. Birth prevalence of achondroplasia: A systematic literature review and meta-analysis. *Am J Med Genet A*. 2020 Oct;182(10):2297–2316.
- Pauli RM. Achondroplasia: a comprehensive clinical review. *Orphanet J Rare Dis*. 2019 Jan 3;14(1):1.
- Leiva-Gea A, Martos Lirio MF, Barreda Bonis AC, et al. Achondroplasia: Update on diagnosis, follow-up and treatment. *An Pediatr (Engl Ed)*. 2022 Dec;97(6):423.e1–423.e11.
- L'Hôte CG, Knowles MA. Cell responses to FGFR3 signaling: growth, differentiation and apoptosis. *Exp Cell Res*. 2005;304:417–31.
- Cormier-Daire V, AlSayed M, Ben-Omran T, et al. The first European consensus on principles of management for achondroplasia. *Orphanet J Rare Dis*. 2021;16:333.
- Coi A, Santoro M, Garne E, et al. Epidemiology of achondroplasia: a population-based study in Europe. *Am J Med Genet Part A*. 2019;179:1–8.
- Merker A, Neumeyer L, Hertel NT, et al. Growth in achondroplasia: Development of height, weight, head circumference, and body mass index in a European cohort. *Am J Med Genet A*. 2018;176:1723–1734.
- Neumeyer L, Merker A, Hagenäs L. Clinical charts for surveillance of growth and body proportion development in achondroplasia and examples of their use. *Am J Med Genet A*. 2021 Feb;185(2):401–412. doi: 10.1002/ajmg.a.61974.
- Savarirayan R, Ireland P, Irving M, et al. International Consensus Statement on the diagnosis, multidisciplinary management and lifelong care of individuals with achondroplasia. *Nat Rev Endocrinol*. 2022;18:173–189.
- Bodensteiner JB. Neurological Manifestations of Achondroplasia. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2019;19:105.
- Wynn J, King TM, Gambello MJ, Waller DK, Hecht JT. Mortality in achondroplasia study: a 42-year follow-up. *Am J Med Genet A*. 2007;143A:2502–11.
- Hecht JT, Francomano CA, Horton WA, Annegers JF. Mortality in achondroplasia. *Am J Hum Genet*. 1987;41(3):454–64.
- Zaffanello M, Cantalupo G, Piacentini G, et al. Sleep disordered breathing in children with achondroplasia. *World J Pediatr*. 2017;13:8–14.
- Hoover-Fong J, Scott CI, Jones MC. Health Supervision for People With Achondroplasia. *Pediatrics*. 2020;145:e20201010.
- Cheung MS, Irving M, Cocca A, Santos R, et al. Achondroplasia Foramen Magnum Score: screening infants for stenosis. *Arch Dis Child*. 2021;106:180–184.
- Savarirayan R, Wilcox WR, Harmatz P, et al. Vosoritide therapy in children with achondroplasia aged 3–59 months: a multinational, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Child Adolesc Health*. 2024;8:40–50.
- Savarirayan R, Wilcox WR, Harmatz P, et al. A Randomized Controlled Trial of Vosoritide in Infants and Toddlers with Achondroplasia. Presented at the Endocrine Society's 2022 Annual Meeting: June 11–14, 2022, Atlanta, GA, USA.
- Ain MC, Shirley ED, Pirouzmanesh A, Skolasky RL, Leet AI. Genu varum in achondroplasia. *J Pediatr Orthop*. 2006;26:375–9.
- Irving M, Savarirayan R, Arundel P, et al. Associations between height and health-related quality of life (HRQoL) and functional independence in children with achondroplasia. Presented at the 59th Annual Meeting of the European Society of Paediatric Endocrinology: September 22–26, 2021.
- Paley D. Extensive limb lengthening for achondroplasia and hypochondroplasia. *Children (Basel)*. 2021;8:540.
- Savarirayan R, Irving M, Bacino CA, et al. C-type natriuretic peptide analogue therapy in children with achondroplasia. *N Engl J Med*. 2019 Jul 4;381(1):25–35.
- Lorget F, Kaci N, Peng J, Bet al. Evaluation of the therapeutic potential of a CNP analog in a Fgfr3 mouse model recapitulating achondroplasia. *Am J Hum Genet*. 2012 Dec 7;91(6):1108–14.
- Horton WA, Hall JG, Hecht JT. Achondroplasia. *Lancet*. 2007 Jul 14;370(9582):162–72.
- Duggan S. Vosoritide: first approval. *Drugs*. 2021;81:2057–62.
- Chan ML, Qi Y, Larimore K, et al. Pharmacokinetics and exposure-response of vosoritide in children with achondroplasia. *Clin Pharmacokinet*. 2022;61:263–80.
- Semler O, Cormier-Daire V, Lausch E, et al. Vosoritide therapy in children with achondroplasia: early experience and practical considerations for clinical practice. *Adv Ther*. 2024;41:198–214.
- Savarirayan R, Tofts L, Irving M, et al. Safe and persistent growth-promoting effects of vosoritide in children with achondroplasia: 2-year results from an open-label, phase 3 extension study. *Genet Med*. 2021;23:2443–7.

29. Hoover-Fong J, Savarirayan R, Tofts L, et al. Persistent and stable growth-promoting effects of vosoritide in children with achondroplasia for up to 3.5 years: results from an ongoing phase 3 extension study. Presented at the 2023 ACMG Annual Clinical Genetics Meeting; March 14–18, 2023; Salt Lake City, UT, USA.
30. Hoover-Fong J, Irving M, Bacino C, et al. eP151 - Vosoritide for children with achondroplasia: a 60-month update from an ongoing phase 2 clinical trial. Mol Genet Metab. 2021;132(Suppl 1):S101. Presented at the ACMG Annual Clinical Genetics Meeting; April 13–16, 2021.
31. European Medicines Agency. Voxzogo: EPAR - Medicine overview. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/VOXZOGO>
32. Savarirayan R, Irving M, Harmatz P, et al. Growth parameters in children with achondroplasia: a 7-year, prospective, multinational, observational study. Genet Med. 2022;24:2444-52.

Adresa za dopisivanje:

Mijana Kero, dr. med., specijalist pedijatar, subspecijalist medicinske genetike
Klinički bolnički centar Split
Klinika za dječje bolesti, Zavod za hematologiju, onkologiju i genetiku
Spinčičeva 1, 21 000 Split
e-mail: mkerok@kbsplit.hr

SUMMARY

Treatment of patients with achondroplasia in the Republic of Croatia – first experiences and results

Mijana Kero

Achondroplasia (ACH) is an autosomal dominant genetic disorder primarily characterized by disproportionate short stature with normal cognitive development. The average final height of adult males with ACH is 130 cm, while for females, it is 125 cm. Individuals with ACH have an average life expectancy of approximately 10 years shorter than the general population due to complications associated with the underlying condition. The most severe complications that contribute to reduced life expectancy include an increased risk of sudden death in childhood due to potential medullary compression at the craniocervical junction, and in adulthood, cardiovascular diseases, and obesity. Until recently, the treatment of patients with achondroplasia was exclusively symptomatic and did not improve physical capabilities or life quality. Since January 2024, patients with ACH in the Republic of Croatia have started treatment with the drug vosoritide, which targets the cause of the disease, namely the disturbance of enchondral ossification caused by a mutation in the FGFR3 gene. Vosoritide is currently the only specific therapeutic option for treating achondroplasia, developed based on an understanding of the disease pathogenesis, with proven positive effects and an acceptable safety profile.

Key words: ACHONDROPLASIA; RECEPTOR, FIBROBLAST GROWTH FACTOR, TYPE 3; NATRIURETIC PEPTIDE, C-TYPE

Retinoblastom

Maja Pavlović*

Retinoblastom (RB) je najčešći zloćudni tumor oka u djece, a razvija se iz stanica mrežnice. Gledajući broj novootkrivenih slučajeva, spada među rijetke bolesti i čini svega 2 % svih malignih bolesti u djece i do 12 % malignih bolesti djece unutar prve godine života. To je embrionalni tumor male djece, agresivne prirode i smrtonosan je ako se ne liječi. 95 % slučajeva otkrije se do 5. godine života, a medijan otkrivanja je 18 mjeseci. Najčešće se prezentira leukokorijom i strabizmom. Tumor mrežnice nastaje uslijed bialelne mutacije tumor supresor gena RB1 smještenog na dugom kraku 13. kromosoma. RB može biti obostrani (30 - 40 %) i jednostrani (60 - 70 %). Obostrani RB uvijek je nasljedan i javlja se u ranijoj dobi u usporedbi s jednostranim. Posljednjih par desetljeća svjedočimo promjeni standarda liječenja te su zračenje orbite i u nekim slučajevima enukleaciju potisnule primjena sistemske, intraarterijske i intravitrealne kemoterapije uz lokalne metode kontrole bolesti (kao što su laserska fotokoagulacija, termoterapija, krioterapija i brahiterapija). Postoji veliki nerazmjer u vremenu otkrivanja, razini medicinske skrbi i ishodu liječenja u socioekonomski razvijenim i nerazvijenim zemljama (na primjer u Africi je stopa preživljenja do 30 %, a u Europi, SAD i Kanadi 95 - 98 %). U Hrvatskoj postoji inicijativa uvođenja ranog otkrivanja RB u novorođenčadi praktičnim i vrlo jednostavnim Brücknerovim testom (izazivanje crvenog refleksa direktnim oftalmoskopom), a planira se izvoditi u rodilištu i kod primarnog pedijatra. U ovom preglednom članku prikazuju se glavne karakteristike bolesti s naglaskom na izazove u liječenju, genetici i genetskom savjetovanju te potrazi za novim biomarkerima proširenosti bolesti.

Ključne riječi: RETINOBLASTOM; NEOPLAZME OKA; DIJETE; RETINOBLASTOMSKI PROTEIN; GENETSKO TESTIRANJE RB

UVOD

Priča o RB je primjer napretka i uspjeha u dječjoj onkologiji i oftalmologiji, gdje se na osnovu razumijevanja nastanka samog tumora, podizanjem svijesti o važnosti ranog otkrivanja bolesti, praktičnom stupnjevanju bolesti i uvođenjem novih metoda lokalne kontrole bolesti u razvijenim zemljama postiglo preživljenje 95 - 98 %.

Liječenje je multidisciplinarno i treba ga provoditi u visokospecijaliziranim centrima sa stručnim osobljem. Posebnu ulogu imaju genetičari zaduženi za informiranje roditelja i odraslih pacijenata o uzorku nasljeđivanja bolesti i vjerojatnosti pojave sekundarnih malignih bolesti.

POVIJEST

Retinoblastom je prvi put opisao nizozemski liječnik Pieter Pawius krajem 16. stoljeća. Škotski kirurg James Wardrop je početkom 19. stoljeća spoznao da tumor raste iz oka i izveo prvu enukleaciju u svrhu liječenja. Tumor je bio poznat kao "gljivasti hematom". Naziv RB skovao je F. H. Verhoeff 1922. godine (1).

EPIDEMIOLOGIJA

Incidencija RB jednaka je u svim populacijama i kreće se od jednog slučaja na 15 000 do 20 000

* Dječja bolnica Srebrnjak, Srebrnjak 100, 10000 Zagreb

živorodne djece (2). Ne postoji zemljopisna, etnička ili spolna sklonost, no prevalencija bolesti je veća u Aziji i Africi zbog visoke stope nataliteta u tim regijama. Od 7000 do 8000 novootkrivenih slučajeva godišnje, polovica ih dolazi iz Azije (isključujući Japan). Stope smrtnosti također su izrazito visoke u nerazvijenim zemljama, a kreću se od 20 do 40 % u Južnoj Americi i Aziji (isključujući Japan) do 70 % u Africi, dok je stopa smrtnosti u Europi i Sjevernoj Americi 3 - 5 % (2, 3). Ovakva situacija u nerazvijenim zemljama rezultat je nepristupačne zdravstvene skrbi, slabe osviještenosti medicinskog osoblja, visokih troškova liječenja, neadekvatne prehrane tijekom trudnoće i niske razine obrazovanja majki, što na kraju dovodi do odgođenog prepoznavanja bolesti i lošije prognoze.

RB je tumor male djece. Dvije trećine slučajeva dijagnosticira se do 2. godine života, a 95 % do 5. godine. Ranija dob otkrivanja povezana je s većom vjerojatnošću bilateralne zahvaćenosti. Medijan postavljanja dijagnoze za unilateralni RB je 24 do 27 mjeseci, a za bilateralni 12 do 15 mjeseci (2, 4).

MOLEKULARNA OSNOVA I GENETSKI TIPOVI RETINOBLASTOMA

RB je primjer tumora na kojem studenti uče ulogu tumor supresor gena u onkogenezi. RB1 gen otkriven je 1986. godine i prvi je opisan tumor supresor gen (4). Smješten je na dugom kraku 13. kromosoma (13q14). Odgovoran je za proizvodnju pRB, proteina koji regulira stanični ciklus. U svom hipofosforiliranom stanju sprečava prijelaz G1 u S fazu staničnog ciklusa. Nedostatak funkcionalnog pRB kod mutacije RB1 rezultira nekontroliranim dijeljenjem stanica (4, 5). Bitno je naglasiti da je za nastanak tumora potrebna inaktivacija oba alela (Knudsonova revolucionarna hipoteza o dvije uzastopne mutacije iz 1971.godine) (5, 6). Prva mutacija može nastati u zametnim ili somatskim stanicama. Druga mutacija nastaje u somatskim stanicama mrežnice u razvoju.

Ova hipoteza osnova je za razumijevanje genetskih podtipova RB. Nasljedni slučajevi, u kojima sve stanice u tijelu nose jednu mutiranu kopiju RB1 gena, čine 30 - 40 % svih slučajeva RB. Germina-

tivne mutacije RB1 gena većinom su nastale *de novo* (75 %), dok su u 25 % slučajeva naslijeđene od roditelja (7, 8). Mogu biti točkaste mutacije, delecije ili metilacije promotora. Pacijenti s germinativnim mutacijama imaju veću vjerojatnost za razvoj bilateralnih i multifokalnih tumora. Također, imaju značajno veći rizik za sekundarne tumore, uključujući primitivni neuroektodermalni tumor (PNET) u mozgu (tzv. "trilateralni retinoblastom"), osteosarkom, mekotskivni sarkom i melanom. Osim toga, postoji 50 % šanse da će njihovi potomci razviti RB, budući da se ovaj poremećaj nasljeđuje autosomno dominantno s 90 % penetracije (9).

Ukoliko obje mutacije RB1 gena nastanu u somatskim stanicama mrežnice, tada bolest nije nasljedna, već je riječ o sporadičnom RB, pri čemu pacijent obično ima jednostranu bolest (60-70 % slučajeva RB).

Iako većina jednostranih tumora nije nasljedna, oko 15 % pacijenata s jednostranim RB ima germinativnu mutaciju. Također, neki pacijenti koji u početku imaju jednostrani oblik bolesti mogu kasnije razviti obostrani RB te je bitno na svakoj kontroli učiniti detaljan pregled oba oka.

Nedavno je revidirano tradicionalno uvjerenje da bialelna mutacija RB1 gena (RB1-/-) pokreće sve RB. Sam RB1-/- može uzrokovati samo početak tumora, ali nije dovoljan za njegov napredak, što je dokazano kod RB1-/- retinoma, benignog oblika ili premalignog prekursora RB. Daljnje genetske ili epigenetske promjene potrebne su uz RB1-/- za rast RB. Analizom somatskih promjena broja kopija identificirani su dodatni geni poput CRB1, NEK7, SOX4 i NUP205 kao potencijalni pokretači tumora (10).

Zanimljivo je da mali postotak RB ne posjeduje nikakve mutacije RB1 gena. Neki od njih imaju visok nivo amplifikacije MYCN onkogenom (MYCNA). RB1+/+MYCNA tumori čine 1,4 % unilateralnih RB. Oni nisu nasljedni i nemaju rizik za kontralateralni RB, obiteljski prijenos ili druge sekundarne tumore (11). U nekim slučajevima su oba gena (RB i MYCN) normalna, što je moguće posljedica 13q kromotripsa.

RB se može javiti i u 13q sindromu (delecija ili translokacija dugog kraka 13. kromosoma), a fenotipski je karakteriziran dizmorfijom, mikroce-

falijom, psihomotornim zaostajanjem, anomalijama gastrointestinalnog trakta (9).

STANICA PORIJEKLA

Istraživanja sugeriraju da RB potiče od prekursora čunjastih fotoreceptora u mrežnici. Pretpostavlja se da su čunjići posebno osjetljiviji na deficit pRB zbog nedostatka kompenzacijskih mehanizama, što dovodi do nekontroliranog rasta (12).

KLINIČKA PREZENTACIJA

Rano postavljanje dijagnoze RB ključno je za povoljan ishod liječenja. Leukokorija ili bijeli pupilarni refleks, koji roditelji obično primijete slučajno tijekom fotografiranja djeteta s bljeskalicom, najčešća je klinička prezentacija (60 - 80 %). Drugi najčešći rani znak je strabizam, koji ukazuje da je tumor zahvatio makulu (4). Stoga svako dijete sa strabizmom treba detaljan i kompletan oftalmološki pregled. Rjeđe kliničke manifestacije u uznapredovalim stadijima bolesti su bolno oko, buphtalmus, neovaskularni glaukom, slabovidnost i orbitalni celulitis. Retinoblastom se može lokalno širiti u žilnicu i bjeloočnicu ili duž optičkog živca direktno u središnji živčani sustav. Također može metastazirati limfogeno u limfne čvorove glave i vrata te hematogeno u koštano srž, kosti i jetru.

U anamnezi pacijenata sa sumnjom na RB potrebno je pitati za druge članove obitelji s malignim bolestima (tumor oka, sarkomi, melanom, itd.), enukleacijom ili sljepoćom. U statusu obratiti pažnju na postojanje dizmorfije i psihomotorni razvoj (13q - sindrom).

DIJAGNOSTIKA

Dijagnoza RB je klinička. Dječji oftalmolog izvodi kompletan i detaljan pregled oba oka u općoj anesteziji te određuje smještaj i veličinu tumora, lateralnost i proširenost bolesti. Preporuka je obilježavanje položaja tumora na crtežu i obavezno dokumentiranje fotografija očne pozadine s kamerom širokog kuta (RetCam®). Patohistološka analiza nije nužna za potvrdu dijagnoze, a biopsija je kontraindicirana zbog rizika širenja tumora izvan oka. Pregled uključuje ispitivanje očne pozadine, ultrazvuk oka, mjerenje očnog tlaka, vidnu oštrinu i hand-held optical coherence tomography (HH-OCT). Preporučuje se magnetska re-

zonanca orbite i mozga tijekom početnog stupnjevanja za procjenu zahvaćenosti optičkog živca i ekstraokularne ekstenzije, kao i za postojanje tzv. trilateralnog RB. Klasični RB izgleda kao žućkasto-bijela retinalna masa s proširenim krvnim žilama; može biti prisutan rasap (seeding) u staklovinu, krvarenje u staklovinu, subretinalna tekućina i subretinalni rasap.

PROBIR

Američka akademija pedijatarata preporučuje da sva novorođenčad, dojenčad i djeca moraju imati pregled crvenog refleksa prije otpusta iz rodilišta kao i pri svim kasnijim rutinskim sistematskim pregledima. Test crvenog refleksa izvodi se u slabo osvijetljenoj ili tamnoj prostoriji s izravnim oftalmoskopom ili retinoskopom s udaljenosti od oko 1-1,5 metara od pacijenta. Leukokorija je najčešći znak RB, a sva novorođenčad ili djeca s abnormalnim crvenim refleksom zahtijevaju hitno upućivanje dječjem oftalmologu.

Oftalmološki probir novorođenčadi najviše je koristan kod pozitivne obiteljske anamneze RB. Potomci, braća i sestre pacijenata trebaju redovite preglede tijekom djetinjstva, osim ako se ne obavi genetsko testiranje i ne pronađe mutacija RB. Tada je rizik sličan riziku opće populacije. Genetsko savjetovanje za obitelji s RB može pomoći u određivanju jesu li drugi članovi obitelji izloženi riziku od razvoja bolesti i koji je rizik za buduće potomke.

KLASIFIKACIJA I STUPNJEVANJE RB

RB može biti intraokularni, ekstraokularni i metastatski. Kako bi odredili optimalni modalitet liječenja i predvidjeli odgovor na sistemsku kemoterapiju, za intraokularni RB postoji više međunarodnih klasifikacija, poput IIRC (engl. *The International Intraocular Retinoblastoma Classification*) i ICRB (engl. *International Classification of Retinoblastoma*) (13, 14).

Prema IIRC postoji 5 kategorija (A - E)

Grupa A: Mali tumori, ≤ 3 mm u najvećoj dimenziji, ograničeni na mrežnicu. Udaljeni su ≥ 3 mm od makule i $\geq 1,5$ mm od optičkog diska.

Grupa B: Tumori veći od 3 mm, udaljeni ≤ 3 mm od makule i $\leq 1,5$ mm od optičkog diska, ili tumori s prisutnom subretinalnom tekućinom čiji je promjer manji od 3 mm od ruba tumora.

Grupa C: RB s rasapom tumorskih stanica (seeding), koji može biti subretinalni, unutar 3 mm od primarnog tumora, vitrealni, smješten manje od 3 mm od primarnog tumora, ili oba oblika (vitrealni i subretinalni rasap) < 3 mm od primarnog tumora.

Grupa D: Retinoblastom s difuznim rasapom tumorskih stanica, koji može biti subretinalni, više od 3 mm od primarnog tumora, vitrealni, više od 3 mm od primarnog tumora, ili kombinacija oba oblika.

Grupa E: Opsežan RB, koji zahvaća više od 50 % očne šupljine. Može biti praćen neovaskularnim glaukomom, smanjenjem i atrofijom oka i/ili zamućenim medijima zbog krvarenja u prednju očnu komoru, staklovinu ili subretinalni prostor. Tumori s invazijom lamine cribrose u optički živac, žilnicu, bjeloočnicu, orbitu ili prednju očnu komoru također pripadaju ovoj skupini.

METASTATSKA BOLEST KOD RETINOBLASTOMA

Metastatska bolest je rijetka, javlja se u 4 - 10 % slučajeva i obično je povezana s određenim intraokularnim histološkim značajkama, kao što su duboka invazija žilnice i bjeloočnice, zahvaćenost cilijarnog tijela ili optičkog živca izvan lamine cribrose (15). Tada je potrebna analiza likvora i aspirata koštane srži/biopsija kosti. Za predviđanje pacijenata s visokim rizikom od mikrometastaza u budućnosti će se vjerojatno koristiti cirkulirajući biomarkeri u krvi. Jedna od mogućnosti je detekcija mikroRNA (16).

TRILATERALNI I KVADRILATERALNI RETINOBLASTOM

Trilateralni retinoblastom odnosi se na postojanje bilateralnog retinoblastoma s intrakranijalnim tumorom, što se javlja u manje od 10 % bilateralnih slučajeva. Ovi tumori često nastaju u epifizi i pripadaju skupini primitivnih neuroektodermalnih tumora (PNET), poznatih kao pineoblastomi. Međutim, u 20 - 25 % slučajeva, tumori su smješteni supraselarno ili paraselarno. Opisani su i rijetki

slučajevi kvadrilateralnog RB, kod kojih je bilateralni RB povezan s primarnim PNET tumorima u regiji epifize i supraselarnoj regiji mozga.

LIJEČENJE

Prioriteti u liječenju RB su jasno definiranog redoslijeda - očuvanje života, očuvanje oka i očuvanje vida. Bolest se liječi multidisciplinarno, u suradnji dječjeg oftalmologa dječjeg onkologa, interventnog radiologa, radijacijskog onkologa, neuro-radiologa, patologa, genetičara, očnog protetičara i psihologa. Smanjenje nuspojava i komplikacija liječenja također je bitno za ove vrlo mlade pacijente. Enukleacija ostaje prva metoda izbora za intraokularni RB kod pacijenata s uznapredovalom jednostranom bolešću (grupa E) i kod grupe D sa zahvaćenom makulom, gdje nije moguće očuvanje vida. Terapijske metode koje mogu biti uspješne u spašavanju oka uključuju sistemsku kemoterapiju s fokalnim konsolidacijskim metodom i intra-arterijsku kemoterapiju. Terapija fokalnom konsolidacijom može biti učinkovita za male tumore (grupa A). To uključuje krioterapiju, lasersku fotokoagulaciju, hipertermiju i lokalnu iradijaciju pločicom (brahiterapiju). Vanjsko zračenje očne šupljine izbjegava se radi nuspojava (katarakta, suhoća oka, nastanak sekundarnih tumora), ali i dalje ima ulogu u liječenju recidiva bolesti ili metastaza. Intravitrealna primjena kemoterapije relativno je nov dodatak terapijskoj paleti i u mnogim centrima zamijenila je zračenje za liječenje rasapa u staklovinu.

ENUKLEACIJA

Enukleacija je indicirana kod unilateralnih retinoblastoma skupine E bez mogućnosti očuvanja vida i kod rezistentnih tumora koji nisu odgovorili na prethodne pokušaje spašavanja oka (17). U mnogim nerazvijenim zemljama, enukleacija je još uvijek standardna metoda liječenja za unilateralne retinoblastome skupine D. Prilikom operativnog zahvata potrebno je izbjeći perforaciju, koristiti minimalnu manipulaciju i osigurati dug batrljak vidnog živca (>10 mm) kako bi osigurali čist kirurški rub. Također treba prikupiti tkivo za genetsku analizu, poslati očnu jabučicu na patohistopatološku analizu kako bi se utvrdili visoki rizični faktori (HRF) i osigurati kozmetičku rehabilitaciju odgovarajućom protezom (18). HRF uključuju: rasap u prednju komoru oka, infiltraciju šarenice/cilijar-

nog tijela, masivnu infiltraciju žilnice, invaziju lamine cribrose, retrolaminarnu invaziju optičkog živca i infiltraciju bjeloočnice. Prisutnost HRF-a ukazuje na visok rizik od metastaza pa ovi pacijenti zahtijevaju 4–6 ciklusa adjuvantne sistemske kemoterapije.

SUSTAVNA KEMOTERAPIJA (IVC)

Prije 1990-ih, zračenje očne šupljine imalo je ključnu ulogu u liječenju RB. IVC je bila ograničena na liječenje metastatskih slučajeva, radi visoke stope recidiva. Međutim, dugoročnim praćenjem, kliničari su shvatili koliki je utjecaj zračenja na pojavnost sekundarnih tumora, osobito kod pacijenata s germinativnim mutacijama RB1. Procjenjuje se da će oko 30 % pacijenata s nasljednim RB razviti sekundarni malignitet (19). Rizik za nastanak drugog maligniteta trostruko je veći u zračenih pacijenata, osobito ako su mlađi od 1 godine. Ove spoznaje dovele su do razvoja učinkovitije kombinacije citostatika sa smanjenim profilom toksičnosti kod male djece.

IVC je indicirana kod pacijenata s bilateralnim (nasljednim) RB, ekstraokularnom bolešću, intraokularnom bolešću s visokorizičnim patohistološkim značajkama nakon enukleacije te intraokularnom bolešću u kombinaciji s agresivnim lokalnim terapijama za očuvanje oka (20, 21). Lijekovi protiv RB uključuju derivate platine, etopozid, vinkristin, ciklofosfamid, ifosfamid i doksorubicin. Najčešće korištena kombinacija sastoji se od vinkristina, karboplatine i etopozida. Karboplatina je osnova IVC intravenoznog kemoterapijskog režima jer postiže visoke koncentracije u cerebrospinalnoj tekućini i staklovini.

INTRAARTERIJSKA KEMOTERAPIJA (IAC)

Kako bi smanjili nuspojave sistemske kemoterapije i omogućili dostavu visoke doze kemoterapije direktno u tumor, razvijena je IAC terapija (22). Procedure u općoj anesteziji visokospecijaliziranim centrima izvode interventni radiolozi ili vaskularni kirurzi. Kateter se uvodi kroz femoralnu arteriju sve do ušća očne arterije. Citostatici (obično melfalan, karboplatina i/ili topotekan) apliciraju se u očnu arteriju tijekom 30 minuta u pulsirajućim intervalima. U nosnicu na strani tre-

tiranog oka nanosi se dekongestiv (vazokonstriktor) kako bi se smanjile lokalne nuspojave i preusmjerio protok krvi iz nosne sluznice. Komplikacije uključuju prolaznu neutropeniju, začepljenje femoralne arterije, sindrom plavih prstiju te vrlo rijetko, disekciju karotidne arterije, moždani udar i smrt. Očne komplikacije su periokularni edem, hiperemija, opadanje trepavica i spuštanje kapka i vaskularni događaji (opstrukcija retinalne arterije, spazam/opstrukcija očne arterije, ishemija žilnice) (23).

INTRAVITREALNA KEMOTERAPIJA (IVC)

Kontrola tumora u staklovini jedan je od najizazovnijih aspekata liječenja RB. Rasap tumorskih stanica u staklovinu (vitrealni seeding) slabo reagira na sistemska i intraarterijsku kemoterapiju, jer staklovina nema krvne žile. Intravitrealne injekcije melfalana omogućuju postizanje visoke koncentracije lijeka unutar staklovine (24). Prije primjene injekcije mora se isključiti prisutnost tumora na mjestu uboda, bulozna ablacija mrežnice, krvarenje u staklovinu i invazija prednjeg segmenta oka. Nuspojave uključuju pigmentne promjene mrežnice i fokalnu kataraktu. Rizik od širenja tumorskih stanica putem ubodne igle smanjen je sigurnosnim tehnikama poput prethodne paracenteze i post-proceduralne trostruke krioterapije smrzavanjem. Osim melfalana, koriste se i drugi citostatici poput topotekana (25).

PRAĆENJE

Tijekom liječenja potrebne su učestale kontrole oftalmologa, obično svakih 4 do 8 tjedana do tri godine od postavljanja dijagnoze. Izgled, veličina, lokacija i broj tumora dokumentira se skicama (crtežima) očne pozadine i kamerom kod svakog pregleda. Tumor koji regredira izgleda kao bijela, kalcificirana masa ili kao mutna masa slična mesu ribe. Recidiv RB iz liječenih lezija vrlo je čest i može se pojaviti godinama nakon liječenja.

Pacijenti s nasljednim RB također zahtijevaju dugoročno praćenje oftalmologa i dječjeg onkologa radi povećanog rizika od razvoja sekundarnih maligniteta (osteosarkom, sarkomi mekih tkiva (najčešće leiomom), melanom i PNET mozga). Pacijenti liječeni radioterapijom imaju veći rizik od sekundarnih tumora, osobito u području liječenja. Du-

goročno oftalmološko i onkološko praćenje svih pacijenata s RB je obavezno, uz posebnu pažnju prema pacijentima koji imaju germinativne mutacije.

GENETSKO TESTIRANJE PACIJENTA

Bilateralni slučajevi gotovo uvijek imaju germinativnu mutaciju RB1, dok unilateralni slučajevi ne bi smjeli biti automatski pretpostavljeni kao somatski, jer 15 % njih može posjedovati germinativnu mutaciju. Stoga je genetsko testiranje indicirano za svu djecu koja boluju od RB s nepoznatim RB1 statusom (26). Detekcija RB1 mutacije može pomoći u identificiranju djece koja su u riziku da razviju nove tumore u ipsilateralnom ili kontralateralnom oku, PNET-ove ili sekundarne tumore. Također je ključna za rano otkrivanje tumora u predisponiranih osoba, odluku o učestalosti kontrola, genetskom savjetovanju, planiranju obitelji i smanjenju nepotrebnih testiranja i obiteljskog praćenja.

Gotovo 95 % RB1 mutacija može se detektirati suvremenim metodama. Sekvencioniranje sljedeće generacije (NGS) može identificirati do 75 % svih RB1 mutacija (27). Za preostale, koriste se druge metode poput multiplex ligacija-ovisne amplifikacije sonde (MLPA), kvantitativne multiplex polimerazne lančane reakcije (QM-PCR) ili molekularni kariogram (aCGH). Kariotipizacija ili fluorescentna in situ hibridizacija (FISH) mogu se koristiti za detekciju velikih delecija ili kromosomskih translokacija, kao u sindromu delecije 13q. Mutacije splicinga ne mogu se detektirati DNA sekvencioniranjem i mogu zahtijevati RT-PCR ili RNA sekvencioniranje. Kod probira poznatih mutacija, Sanger dideoksi sekvencioniranje ili alel specifični PCR (AS-PCR) mogu biti učinkovitiji.

Ovi testovi zahtijevaju uzorke DNK dobre kvalitete, koji potiču iz periferne krvi, sline ili tumorskog tkiva (svježe/zamrznuto tkivo je bolje za analizu u odnosu na formalin-fiksirane/parafinske uzorke). U 97 % bilateralnih slučajeva, mutacija se može detektirati samo iz leukocitne DNK, dok u 3 % zahtijeva DNK iz tumora. U unilateralnim slučajevima, testiraju se oba: prvo tumor, zatim krv. Ako mutacija pronađena u DNK tumora također postoji u krvi, to ukazuje na nasljedni RB. Ukoliko mutacija nije prisutna u krvi, najvjerojatnije je spo-

radična, no postoji vrlo mali rizik (<1 %) od nasljednog oblika zbog mozaicizma (9, 11).

GENETSKO TESTIRANJE ČLANOVA OBITELJI

Članovima obitelji koji imaju rizik prijenosa RB1 mutacije treba ponuditi genetsko testiranje. Ako roditelji pacijenta imaju mutaciju, tada svaki njihov potomak ima 50 % šanse razviti RB. Nadalje, 10 % roditelja koji su negativni na mutaciju mogu posjedovati mozaicizam; njihovi potomci imaju 2 – 3 % rizika od nasljeđivanja mutacije. Ukoliko pacijent ima mozaicizam, tada testiranje roditelja ili braće i sestara nije potrebno, jer mozaicizam nije nasljedan, dok potomci pacijenta s mozaicismom moraju biti testirani. Djeca s poznatim statusom germinativne mutacije RB1, ali bez tumora, moraju se pratiti jednom mjesečno do 1. godine života, a zatim svaka 3 mjeseca do 5. godine života.

GENETSKO SAVJETOVANJE

Obitelji pacijenata (i sami pacijenti, kada su stariji) trebaju biti upućeni na genetsko savjetovanje nakon dijagnoze RB kako bi ih educirali o nasljeđivanju, riziku od malignih bolesti u drugih potomaka i rodbini, planiranju obitelji te dostupnim genetskim testiranjima. Također, treba im se ponuditi psihološka podrška.

LIKVIDNA BIOPSIJA

Tumor specifična DNK za genetsku analizu dosad je bila dostupna samo iz enukliranih očiju, jer je biopsija kontraindicirana kod RB. Nedavna istraživanja pokazuju da očna vodica iz prednje komore pacijenata s RB sadrži mjerljive razine slobodne DNA (cfDNA), koja je tamo difundirala iz nekrotičnih ili litičnih tumorskih stanica iz stražnjeg segmenta oka. Dovoljna je mala količina očne vodice (0,1 mL) za dobivanje DNA u svrhu genetske analize. Analiza razine cfDNA iz krvi (tekuća biopsija) obećavajuća je i neinvazivna metoda koja se može koristiti za predviđanje metastatskog rizika putem molekularnog profiliranja. Osim prognostičkog značenja, praćenje cfDNA u krvi nakon enukleacije može predvidjeti ekstraokularni relaps (28). Preporučeni potencijalni biomarkeri za predviđanje metastaza su mikroRNA, cone-rod homeobox (CRX) ili Otx-like homeobox transkripcijski faktor, te CTX mRNA (16).

ZAKLJUČAK

Podizanje svijesti o RB i napreci u terapijskim modalitetima posljednja dva desetljeća rezultirali su visokom stopom preživljenja u razvijenim zemljama. Kako prognoza ovisi o ranom postavljanju dijagnoze, od izuzetne važnosti je uvođenje probira crvenim refleksom u RH. Dugoročno praćenje obavezno je za preživjele od RB, jer postoji rizik od razvoja sekundarnih malignih bolesti. Genetsko testiranje i genetsko savjetovanje pomažu roditeljima i pacijentima u odrasloj dobi bolje razumijevanje prirode bolesti.

LITERATURA

- Moschos MM. From fungus haematodes to retinoblastoma. *J Buon*. 2017;22(6):1599-602.
- Kivelä T. The epidemiological challenge of the most frequent eye cancer: retinoblastoma, an issue of birth and death. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(8):1129-31.
- Dimaras H, Kimani K, Dimba EA, et al. Retinoblastoma. *Lancet*. 2012;379(9824):1436-46.
- Ortiz MV, Dunkel IJ. Retinoblastoma. *J Child Neurol*. 2016;31(2):227-36.
- Dimaras H, Corson TW, Cobrinik D, et al. Retinoblastoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15021.
- Mallipatna A, Marino M, Singh AD. Genetics of retinoblastoma. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2016;5(4):260-4.
- Rodriguez-Galindo C, Orbach DB, VanderVeen D. Retinoblastoma. *Pediatr Clin North Am*. 2015;62(1):201-23.
- Villegas VM, Gold AS, Wildner A, Ehli F, Murray TG. Genomic landscape of retinoblastoma. *Clin Exp Ophthalmol*. 2014 Jan-Feb;42(1):2-3. doi: 10.1111/ceo.12277. PMID: 24433353. elamud A, Palekar R, Singh A. Retinoblastoma. *Am Fam Physician*. 2006;73(6):1039-44.
- Mallipatna A, Marino M, Singh AD. Genetics of retinoblastoma. *Asia Pac J Ophthalmol*. 2016;5(4):260-4.
- Kooi IE, Mol BM, Massink MP, et al. A meta-analysis of retinoblastoma copy numbers refines the list of possible driver genes involved in tumor progression. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153323.
- Soliman SE, Racher H, Zhang C, MacDonald H, Gallie BL. Genetics and molecular diagnostics in retinoblastoma - an update. *Asia Pac J Ophthalmol*. 2017;6(2):197-207.
- Xu XL, Singh HP, Wang L, et al. Rb suppresses human cone-precursor-derived retinoblastoma tumours. *Nature*. 2014;514(7522):385-8.
- Linn Murphree A. Intraocular retinoblastoma: the case for a new group classification. *Ophthalmol Clin North Am*. 2005;18(1):41-53.
- Shields CL, Mashayekhi A, Au AK, et al. The International Classification of Retinoblastoma predicts chemoreduction success. *Ophthalmology*. 2006;113(12):2276-80.
- Gündüz K, Müftüoğlu O, Günalp I, Unal E, Taçyıldız N. Metastatic retinoblastoma clinical features, treatment, and prognosis. *Ophthalmology*. 2006;113(9):1558-66.
- Cassoux N, Lumbroso L, Levy-Gabriel C, Aerts I, Doz F, Desjardins L. Retinoblastoma: update on current management. *Asia Pac J Ophthalmol*. 2017;6(3):290-5.
- Ancona-Lezama D, Dalvin LA, Shields CL. Modern treatment of retinoblastoma: A 2020 review. *Indian J Ophthalmol*. 2020;68(11):2356-65.
- Honavar SG, Singh AD. Management of advanced retinoblastoma. *Ophthalmol Clin North Am*. 2005;18(1):65-73.
- Marees T, Moll AC, Imhof SM, de Boer MR, Ringens PJ, van Leeuwen FE. Risk of second malignancies in survivors of retinoblastoma: more than 40 years of follow-up. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100(24):1771-9.
- Raval V, Bowen RC, Soto H, Singh A. Intravenous chemotherapy for retinoblastoma in the era of intravitreal chemotherapy: a systematic review. *Ocul Oncol Pathol*. 2021;7(2):142-8.
- Shields CL, Kaliki S, Rojanaporn D, Al-Dahmash S, Bianciotto CG, Shields JA. Intravenous and intra-arterial chemotherapy for retinoblastoma: what have we learned? *Curr Opin Ophthalmol*. 2012;23(3):202-9.
- Zanaty M, Barros G, Chalouhi N, et al. Update on intra-arterial chemotherapy for retinoblastoma. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:869604.
- Ramasubramanian A, Sinha N, Rosenwasser RH, Shields CL. Regression of advanced group E retinoblastoma with intra-arterial chemotherapy. *Retin Cases Brief Rep*. 2012;6(4):406-8.
- Shields CL, Lally SE, Leahey AM, et al. Targeted retinoblastoma management: when to use intravenous, intra-arterial, periocular, and intravitreal chemotherapy. *Curr Opin Ophthalmol*. 2014;25(5):374-85.
- Munier FL, Gaillard MC, Balmer A, et al. Intravitreal chemotherapy for vitreous disease in retinoblastoma revisited: from prohibition to conditional indications. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(8):1078-83.
- Cowell JK, Gallie BL. Which retinoblastoma patients should be screened for RB1 mutations? *Eur J Cancer*. 1998;34(12):1825-6.
- Lohmann DR. RB1 gene mutations in retinoblastoma. *Hum Mutat*. 1999;14(4):283-8.
- Schachuevich P, Francis JH, Cancela MB, Carcaboso AM, Chantada GL, Abramson DH. Treatment of retinoblastoma: What is the latest and what is the future? *Front Oncol*. 2022;12:822330.

Adresa za dopisivanje:

prim. **Maja Pavlović**, dr. med. pedijatrijski hematolog i onkolog
Dječja bolnica Srebrnjak
Srebrnjak 100, 10000 Zagreb
e-mail: drmaja.pavlovic@gmail.com

SUMMARY

Retinoblastoma

Maja Pavlović

Retinoblastoma (RB) is the most common malignant eye tumor in children, arising from retinal cells. Although it is considered a rare disease in terms of newly diagnosed cases, it accounts for approximately 2 % of all childhood malignancies and up to 12 % of malignancies occurring within the first year of life. It is an embryonal tumor of young children, characterized by aggressive growth and fatal outcomes if left untreated. 95 % of cases are diagnosed by the age of 5, with a median age at diagnosis of 18 months. It most commonly presents with leukocoria and strabismus. Retinal tumors arise due to biallelic mutations of the tumor suppressor gene RB1 located on the long arm of chromosome 13. RB can be bilateral (30 - 40 %) or unilateral (60 - 70 %). Bilateral RB is always inherited and tends to occur at an earlier age than unilateral cases. Over the past few decades, there has been a shift in treatment approaches. Traditional radiation therapy for the orbit and, in some cases, enucleation have largely been replaced by systemic, intraarterial, and intravitreal chemotherapy combined with local disease control methods such as laser photocoagulation, thermotherapy, and cryotherapy. There is a significant disparity in diagnosis timing, level of medical care, and treatment outcomes between socioeconomically developed and underdeveloped countries. For example, the survival rate in Africa is as low as 30 %, whereas in Europe, the USA, and Canada it reaches 95 - 98 %. In Croatia, an initiative has been proposed to introduce early detection of RB in neonates using the Bruckner test. It is a simple yet highly effective screening method that induces the reflex with a direct ophthalmoscope. The plan is to implement it in maternity hospitals or conducted by primary pediatricians. This review article presents the main characteristics of the disease, focusing on challenges in treatment, genetics, and genetic counseling, and the ongoing search for new biomarkers associated with disease progression.

Key words: RETINOBLASTOMA; EYE NEOPLASMS; CHILD; RETINOBLASTOMA PROTEIN; GENETIC TESTING

Novosti u probiru prvog trimestra – može li NIPT zamijeniti rani kombinirani probir?

Biserka Knezić Frković*

Ključne riječi: PRENATALNA DIJAGNOSTIKA; NEINVAZIVNI PRENATALNI TEST

Učinkovit probir na kromosomske abnormalnosti može se učiniti u prvom tromjesečju trudnoće.

Kromosomske abnormalnosti se pojavljuju u približno 1 na 150 živorođene djece. Njihova pojavnost raste kako žena stari, ali mogu zahvatiti fetus trudnice bilo koje dobi (1).

Prenatalni genetski screening, kojeg čine biokemijski serum screening s ultrazvučnim mjerenjem nuhalne translucence (NT) ili neinvazivni prenatalni test (NIPT) na bazi slobodne DNA (cfDNA, engl. circulating free DNA), i dijagnostičko testiranje (biopsija korionskih resica ili amniocenteza) kao opcije trebaju biti dio rutinskog prenatalnog savjetovanja te ponuđene svim trudnicama, neovisno o njihovoj dobi ili riziku za kromosomske abnormalnosti (1).

Potrebno je naglasiti razliku između screening testa koji klasificira pacijente u viši ili niži rizik za specifičnu fetalnu aneuploidiju, nasuprot dijagnostičkog testa koji dijagnosticira ili isključuje fetalne kromosomske abnormalnosti, uz ograničenja svakog izabranog testa.

Rano otkrivanje trudnoća s visokim rizikom za trisomije 21, 18 i 13 primarni je cilj prenatalnog probira na aneuploidije (2).

Rani kombinirani probir (RKP) uključuje ultrazvučni pregled tj. mjerenje nuhalne translucence (NT) i određivanje biokemijskih biljega povezanih s aneuploidijom: plazma protein A povezan s trud-

noćom (PAPP-A) i slobodni-beta ili ukupni humani korionski gonadotropin (hCG) koje luči posteljica.

Nuhalna translucenca je ultrazvučni prikaz kolekcije tekućine između kože i mekog tkiva koje prekriva fetalnu kralježnicu na stražnjoj strani vrata ploda. NT zadebljanje se mjeri ultrazvučnim pregledom kada duljina ploda tjeme- trtica(CRL) iznosi 45 do 84 mm što odgovara trudnoći otprilike 11+0 do 13+6 tjedana. Fetusi s kromosomskim abnormalnostima, srčanim greškama i mnogim genetskim sindromima imaju povišenu debljinu NT (3).

Izoliranim ultrazvučnim mjerenjem NT možemo detektirati 80 % fetusa s trisomijom 21 i druge velike aneuploidije, sa stopom lažno pozitivnih rezultata od 5 %. Kombinacija NT i biokemijskih markera slobodne β -hCG i PAPP-A poboljšava potencijalnu osjetljivost na 90 %. Sada postoje dokazi da stopa detekcije može biti povećana na oko 95 %, sa smanjenjem stope lažno pozitivnih nalaza na 3 %, istodobnim pregledom „novih ultrazvučnih markera“: nosne kosti, protoka u duktusu venozusu i trikuspidalnoj valvuli (4).

Kvaliteta mjerenja NT, kao markera za rani probir, izuzetno je važna, ali nije konzistentna od studije do studije, vjerojatno zbog varijabilnosti u stručnosti ultrasoničara i u ovisnosti o kvaliteti opreme (5). Iz tog razloga potrebna je pravilna edukacija i relicenciranje osoba, tehnike i laboratorija koji provode rani kombinirani probir (5). Fetalna me-

* Zavod za perinatalnu medicinu, Klinika za ženske bolesti i porode, Klinički bolnički Centar Zagreb, Petrova 13, 10000 Zagreb

dicinska Fondacija(FMF) nudi edukaciju i provjera kvalitetu mjerenja ultrazvučnih markera aneuploidija.

Najbolja interpretacija NT je unutar ranog kombiniranog probira koji uključuje majčinu dob i biokemijske markere prvog tromjesečja, a kao nalaz iskazuje pacijentov specifični rizik za trisomiju 21, 18 i 13 (6).

Downov sindrom (T21) je najčešća kromosomska abnormalnost među živorođenom djecom. Za trudnoće zahvaćene sindromom Down karakteristični su povišen biokemijski marker beta-hCG, snižen PAPP-A i povišena vrijednost NT.

Trisomija 18 (T18) ima prevalenciju 1 na 4000 poroda (7) i, kao kod trisomije 21, učestalost raste s uznapređovalom dobi majke. Prevalencija je 3 - 5 puta viša u prvom i drugom tromjesečju nego po porodu jer mnogi zahvaćeni fetusi spontano umiru intrauterino. Primjenom ranog kombiniranog testa uočava se biokemijski obrazac karakterističan za T18 u prvom tromjesečju: vrlo niska razina beta-hCG - a, vrlo niska razina proteina PAPP-A i povećana nugalna translucencija. Trisomija 13 je čak teža i rjeđa od trisomije 18, s prevalencijom otprilike 1 na 7000 živorođene djece (7) te ima biokemijske i ultrazvučne markere slične kao trisomija 18.

NT nije samo marker za trisomiju 21, već otprilike oko 50 % različitih kromosomskih abnormalnosti povezano je s povišenom vrijednosti NT (6). Više znanstvenih perinatalnih društva preporučuje invazivno testiranje umjesto NIPT - a kada je NT zadebljanje veće od praga od 3.0 mm ili 3.5 mm (8).

Ultrazvučni pregled u prvom tromjesečju od 11 do 13+6 tjedna trudnoće osim za određivanje točne gestacijske dobi i mjerenja vrijednosti NT, važan je i zbog prvog detaljnog pregleda morfologije ploda te otkrivanja raznih strukturnih anomalija (8).

Uvođenje neinvazivnog prenatalnog testa (NIPT) remoduliralo je izvođenje prenatalnog ranog probira (8). Tijekom posljednjeg desetljeća, neinvazivno prenatalno testiranje dramatično je unaprijedilo prenatalnu skrb, smanjujući upotrebu i rizike povezane s invazivnim postupcima poput amniocenteze i uzorkovanja korionskih resica (9).

Napredak u genomici i povezanim tehnologijama rezultirao je razvojem neinvazivnog prenatalnog

testiranja korištenjem sekvenci fetalne DNA, izolirane iz majčinog uzorka krvi. NIPT pruža direktni uvid u fetalni genotip putem novih generacija sekvenciranja slobodne DNA u majčinoj krvi od 10. tjedna trudnoće, korištenjem višestrukih tehnika i platformi od kojih je svaka jedinstvena (10). Iako je svaka tehnika jedinstvena, one sve imaju visoku senzitivnost i specifičnost za detekciju najčešćih aneuploidija. Može se ispitati cijeli genom, ali najčešće se cilja na kromosome 21, 18, 13, X i Y (11).

I majka i fetalno - placentarna jedinica proizvode cfDNA. Smatra se da je primarni izvor tzv. fetalne cfDNA (cffDNA) u majčinoj cirkulaciji apoptoza placentalnih stanica (sinciotrofoblast), dok su matične hematopoetske stanice izvor većine majčine cfDNA. cffDNA potječe iz posteljice te se može otkriti već u 5. tjednu trudnoće, a fetalni udio raste na 10 - 20 % ukupne totalne cirkulirajuće cfDNA. Potrebna je određena količina fetalno - placentalne cfDNA u majčinoj krvi kako bi rezultat NIPT testiranja bio pouzdan. Općenito, donja granica fetalne cfDNA iznosi 1 do 3,5 posto totalne cirkulirajuće cfDNA (11).

cfDNA je najsenzitivniji test probira za trisomije 21, 18 i 13 koje čine 71 posto svih prenatalno otkrivenih kromosomskih abnormalnosti. Test koji koristi cfDNA u probiru za T21 detektira oko 99 % zahvaćenih trudnoća s lažno pozitivnom stopom od otprilike 1 - 2 na 1000 trudnoća. Stopa detekcije za T18 i T13 je nešto manja sa sličnom stopom lažno pozitivnih rezultata (11).

Unatoč visokoj točnosti cfDNA testiranja, pacijente s pozitivnim rezultatom, odnosno s visokim rizikom za fetalnu aneuploidiju, potrebno je uputiti na genetsko savjetovanje i na invazivni postupak (biopsija korionskih resica ili amniocenteza), koji je i dalje zlatni standard u prenatalnoj dijagnostici jer NIPT nije dijagnostički test (2).

U usporedbi s RKP, glavna prednost NIPT - a je viša stopa detekcije i manje lažno pozitivnih rezultata te su često rezultati dostupni od ranije gestacijske dobi što omogućuje roditeljima više vremena za genetsko savjetovanje i odluke o daljnjem tijeku trudnoće.

Prenatalno cfDNA testiranje za ostala genetska stanja je također moguće i komercijalno je dostupno, uključujući ostale trisomije, aneuploidije spolnih kromosoma, mikroleucije i mikrodupli-

kacije, monogenske bolesti, ali informacije o senzitivnosti i specifičnosti ovih testova probira u općoj opstetričkoj populaciji su ograničene (12). Zbog toga profesionalna medicinska društva ne preporučuju rutinsku primjenu ovih testova za rijetke genetske poremećaje u općoj populaciji, osim uobičajenih autosomalnih aneuploidija (T21, T18, T13) (1).

Postoji tendencija da NIPT u potpunosti zamjeni rani kombinirani probir (8). Neosporno je, u direktnoj usporedbi s RKP, NIPT je superiorna screening metoda za najčešće kromosomopatije, osobito trisomiju 21, u jednodnoj i blizanačkim trudnoćama sa stopom detekcije za trisomiju 21 koja iznosi 99 % (1,8). Zahvaljujući naprednim tehnologijama sekvencioniranja, NIPT će postati glavni prenatalni test probira za aneuploidije.

Američko društvo porodničara i ginekologa (ACOG, engl. *American College of Obstetricians and Gynecologists*) snažno preporučuje korištenje NIPT-a kao prvog izbora nad tradicionalnim metodama probira zbog njegove superiorne učinkovitost, jednostavnosti, neinvazivnosti i niskog rizika komplikacija (1).

S obzirom na to da NIPT ne pruža informacije o morfologiji ploda, niti različitim strukturnim anomalijama poput srčanih i anomalija mozga te defekata neuralne cijevi, cfDNA test je test komplementaran ultrazvučnom pregledu prvog tromjesečja i ne može ga zamijeniti (1). Zajedno ultrazvučni pregled i NIPT predstavljaju odličan primjer sinergije između radioloških ultrazvučnih dijagnostičkih tehnika i laboratorijskog testiranja, a u prenatalnom savjetovanju o kromosomskim poremećajima potreban je individualan pristup svakoj trudnici.

LITERATURA

1. American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins – Obstetrics, Committee on Genetics, Society for Maternal-Fetal Medicine. Screening for fetal chromosomal abnormalities: ACOG Practice Bulletin, Number 226. *Obstet Gynecol.* 2020 Oct;136(4):e48-69.
2. Messerlian GM, Halliday JV, Palomaki GE. Down syndrome: Overview of prenatal screening. UpToDate. Con-

nor RF, editor. Wolters Kluwer. [Accessed 2025 Feb]. Available from: <https://www.uptodate.com>

3. Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn.* 2011;31(1):7-15.
4. Prefumo F, Sethna F, Sairam S, Bhide A, Thilaganathan B. First-trimester ductus venosus, nasal bones, and Down syndrome in a high-risk population. *Obstet Gynecol.* 2005 Jun;105(6):1348-54. PMID: 15932828.
5. Cuckle H, Platt LD, Thornburg LL, Bromley B, Fuchs K, Abuhamad A, Benacerraf B, Copel JA, Depp R, D'Alton M, Goldberg J, O'Keefe D, Spitz J, Toland G, Wapner R; Nuchal Translucency Quality Review Program of the Perinatal Quality Foundation. Nuchal Translucency Quality Review (NTQR) program: first one and a half million results. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Feb;45(2):199-204.
6. Nicolaides KH. First-trimester screening for chromosomal abnormalities. *Semin Perinatol.* 2005 Aug;29(4):190-4.
7. Savva GM, Walker K, Morris JK. The maternal age-specific live birth prevalence of trisomies 13 and 18 compared to trisomy 21. *Prenat Diagn.* 2010;30(1):57.
8. Bardi F, Kagan KO, Bilardo CM. First-trimester screening strategies: A balance between costs, efficiency and diagnostic yield. *Prenat Diagn.* 2023 Jun;43(7):865-72.
9. Moufarrej MN, Bianchi DW, Shaw GM, Stevenson DK, Quake SR. Noninvasive prenatal testing using circulating DNA and RNA: advances, challenges, and possibilities. *Annu Rev Biomed Data Sci.* 2023 Aug 10;6:397-418.
10. Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genet Med.* 2011 Nov;13(11):913-20.
11. Palomaki GE, Messerlian GM, Halliday JV. Prenatal screening for common fetal aneuploidies: cell-free DNA test. UpToDate. Connor RF, editor. Wolters Kluwer. [Accessed 2025 Feb]. Available from: <https://www.uptodate.com>
12. Ravitsky V, Roy MC, Haidar H, et al. The emergence and global spread of noninvasive prenatal testing. *Annu Rev Genom Hum Genet.* 2021 Jan 1;22:309-38.

Adresa za dopisivanje:

Biserka Knezić Frković, dr. med. spec. ginekologije i porodništva

Zavod za perinatalnu medicinu, Klinika za ženske bolesti i porode

Klinički bolnički Centar Zagreb

Petrova 13, 10000 Zagreb

E-mail: knezicfrkovicb@gmail.com

Dječja oftalmologija
Children's ophthalmology

Pet godina genske terapije u hrvatskoj oftalmologiji – uspjesi, izazovi i perspektive

Mirjana Bjeloš^{1,2,3,4}, Mladen Bušić^{1,2,3,4}, Ana Ćurić^{1,3}, Damir Bosnar^{1,2,3}, Borna Šarić¹, Biljana Kuzmanović Elabjer^{1,2,3}, Jurica Predović^{1,2,3}, Benedict Rak¹

Cilj: Genska terapija transformirala je liječenje nasljednih mrežničnih distrofija (IRD, engl. inherited retinal dystrophies), pružajući rješenja za bolesti koje su se prije smatrale neizlječivima. Godine 2017. FDA je odobrila voretigene neparvovec-rzyl (VN) (Luxturna, Spark Therapeutics) za liječenje mrežničnih distrofija povezanih s bialelnom mutacijom RPE65 gena, nakon čega je uslijedilo odobrenje EMA-e 2018. Bez liječenja ovo stanje obično napreduje do sljepoće u trećem ili četvrtom desetljeću života. VN je zasad jedina odobrena genska terapija za liječenje IRD-a.

Cilj ovog rada je procijeniti kliničke ishode, izazove i buduće perspektive petogodišnje primjene genske terapije u Hrvatskoj, s fokusom na liječenje IRD-a povezanih s RPE65 u Referentnom centru za nasljedne mrežnične distrofije Kliničke bolnice “Sveti Duh” Zagreb.

Metode: Retrospektivna analiza podataka.

Rezultati: Hrvatska je 2020. godine pokrenula liječenje VN-om, postavši šesti nacionalni centar za liječenje u svijetu nakon SAD-a, Njemačke, Izraela, Francuske i Ujedinjenog Kraljevstva. Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje je u siječnju 2020. odobrio punu naknadu bolesnicima za liječenje VN-om, prepoznavši ga kao jako skupi lijek koji je dostupan isključivo u Kliničkoj bolnici „Sveti Duh“ Zagreb.

Tijekom pet godina, centar je liječio 33 pacijenta (61 oko) u dobi između 1 i 66 godina, čime se postavio kao najveće prekogranično središte za liječenje u cijelom svijetu. Osim hrvatskih državljana (11), liječeni su i bolesnici iz Bjelorusije (1), Bugarske (5), Crne Gore (5), Bosne i Hercegovine (1), Mađarske (2), Češke (3) i Slovačke (5).

Podobnost za liječenje se utvrđuje kroz sveobuhvatnu procjenu vidne funkcije prije liječenja. Imunomodulacijska terapija započinje četiri dana prije operativnog zahvata, a drugo oko se tretira 6–18 dana kasnije. Ishodi liječenja pokazali su sigurnost i učinkovitost, uz značajna poboljšanja skotopičkog vida u svim dobnim skupinama. Pedijatrijski pacijenti pokazali su superiorne rezultate.

¹Klinika za očne bolesti, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za dječju oftalmologiju i strabizam, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za nasljedne mrežnične distrofije, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za standardiziranu ehografiju u oftalmologiji, Klinička bolnica “Sveti Duh”, Zagreb, Hrvatska

²Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

³Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

⁴Suradni centar Svjetske zdravstvene organizacije za dječju oftalmologiju, CRO-16

tate; međutim, funkcionalni ishod je više korelirao s očuvanjem fotoreceptora nego s dobi. Specifični fenotipovi ili genotipovi nisu povezani s poboljšanim ishodima.

Nuspojave su bile minimalne i pretežno povezane s kirurškim zahvatom, poput katarakte. Korio-retinalna atrofija (CRA, engl. chorioretinal atrophy), prethodno neprijavljena nuspojava tijekom ispitivanja VN-a, prijavljena je nakon stavljanja lijeka u promet. Međutim, pojava CRA nije umanjila ukupne dobrobiti liječenja tijekom promatranog razdoblja praćenja.

Zaključci: Hrvatsko iskustvo pokazuje znatan napredak u prevladavanju izazova kao što su genotipizacija, etička razmatranja i logističke prepreke. Petogodišnja terapija VN-om u Hrvatskoj pokazala je njegovu sigurnost i učinkovitost, posebice u pedijatrijskih bolesnika. Gledajući u budućnost, proširenje pristupa genskoj terapiji putem međunarodne suradnje, unaprjeđenje dijagnostičkih alata za ranije otkrivanje i istraživanje terapija za druge IRD bit će od ključne važnosti. Istraživanja optimizacije tehnika primjene lijeka i izbjegavanja štetnih događaja kao što je CRA dodatno će poboljšati rezultate. Ovi naponi postavljaju gensku terapiju kao kamen temeljac budućeg liječenja IRD-a u okviru personalizirane medicine, s potencijalom da se njezina korist proširi i na širu populaciju bolesnika.

Ključne riječi: MREŽNICA; MREŽNIČNE DISTROFIJE; GENSKA TERAPIJA; LEBEROVA KONGENITALNA AMAUROZA; RETINITIS PIGMENTOSA

LITERATURA/REFERENCES

1. Luxturna, INN-voretigene neparvovec. Summary of product characteristics. Available from: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2018/20181122142655/anx_142655_en.pdf. Accessed Jan 19, 2025.
2. Russell S, Bennett J, Wellman JA, et al. Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2017;390(10097):849-60. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31466-5.
3. Stingl K, Priglinger C, Herrmann P. RPE65-associated retinal dystrophies: phenotypes and treatment effects with voretigene neparvovec. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2024; 241(3):259-65. doi: 10.1055/a-1802-0264.
4. Fischer MD, Simonelli F, Sahni J, et al. Real-world safety and effectiveness of voretigene neparvovec: results up to 2 years from the prospective, registry-based PERCEIVE study. *Biomolecules*. 2024;14(1):122. doi: 10.3390/biom14010122.
5. Fischer MD, Bartz-Schmidt KU, Dimopoulos S, et al. Surgical aspects in gene therapy for inherited retinal diseases. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2021;238(3):267-71. doi: 10.1055/a-1216-8934.
6. Stingl K, Kempf M, Jung R, Stingl K. Chorioretinal atrophy growth after voretigene neparvovec retinotopically is connected to retinal functional rescue. *Transl Vis Sci Technol*. 2024;13(2):13. doi: 10.1167/tvst.13.2.13.

Adresa za dopisivanje:

prof. dr. sc. **Mirjana Bjeloš**, dr. med.

Klinika za očne bolesti, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za dječju oftalmologiju i strabizam, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za nasljedne mrežnične distrofije, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za standardiziranu ehografiju u oftalmologiji, Klinička bolnica "Sveti Duh" Zagreb
Sveti Duh 64, 10 000 Zagreb, Hrvatska
e-mail: dr.mbjelos@gmail.com

SUMMARY

Five years of gene therapy in Croatian ophthalmology – successes, challenges and perspectives

Mirjana Bjeloš, Mladen Bušić, Ana Ćurić, Damir Bosnar, Borna Šarić,
Biljana Kuzmanović Elabjer, Jurica Predović, Benedict Rak

Aim: Gene therapy has transformed the management of inherited retinal dystrophies (IRD), providing transformative solutions for conditions previously deemed untreatable. In 2017, the FDA approved voretigene neparvovec-rzyl (VN) (Luxturna, Spark Therapeutics) for RPE65-biallelic mutation-associated retinal dystrophies, followed by EMA approval in 2018. Without intervention, this condition typically progresses to blindness in the third or fourth decade of life. Voretigene neparvovec remains the only approved gene therapy for any IRD.

The aim is to evaluate the clinical outcomes, challenges, and future perspectives of five years of gene therapy in Croatia, focusing on the treatment of RPE65-associated IRDs at the Reference Centre for Inherited Retinal Dystrophies, University Hospital “Sveti Duh” in Zagreb.

Methods: Retrospective data analysis.

Results: Croatia initiated VN treatment in 2020, becoming the sixth national treatment center globally after the USA, Germany, Israel, France, and the UK. In January 2020, the Croatian Health Insurance Fund approved full reimbursement for VN, recognizing it as a high-cost treatment available exclusively at the University Hospital “Sveti Duh” in Zagreb.

Over five years, the center has treated 33 patients (61 eyes) aged between 1 and 66, establishing itself as the largest cross-border treatment hub worldwide. In addition to Croatia’s citizens (11), patients from Belarus (1), Bulgaria (5), Montenegro (5), Bosnia and Herzegovina (1), Hungary (2), the Czech Republic (3), and Slovakia (5) were administered VN.

Eligibility is determined through a comprehensive pre-treatment assessment of visual function. Immunomodulatory therapy begins four days before the procedure, with the second eye treated 6–18 days later. Treatment outcomes demonstrated safety and efficacy, significantly improving scotopic vision across all age groups. Pediatric patients exhibited superior outcomes; however, functional rescue correlated more strongly with pre-treatment photoreceptor preservation than with age. No specific phenotypes or genotypes were associated with enhanced outcomes.

Adverse events were minimal and predominantly linked to surgical interventions, such as cataracts. Chorioretinal atrophy (CRA), a previously unreported adverse event during pivotal VN trials, was identified in post-marketing data. However, CRA events did not diminish the treatment’s overall benefits during the observed follow-up period.

Conclusions: The Croatian experience highlights substantial progress in overcoming challenges such as genotyping, ethical considerations, and logistical barriers. Five years of VN therapy in Croatia have demonstrated its safety and efficacy, particularly in pediatric patients. Looking forward, expanding access to gene therapy through international collaborations, advancing diagnostic tools for earlier detection, and exploring therapies for other IRDs will be crucial. Research into optimizing delivery techniques and mitigating long-term adverse events like CRA will further enhance outcomes. These efforts position gene therapy as a cornerstone of future IRD treatment within the framework of personalized medicine, with the potential to extend its benefits to a broader patient population.

Key words: RETINA; RETINAL DYSTROPHIES; GENETIC THERAPY; LEBER CONGENITAL AMAUROSIS; RETINITIS PIGMENTOSA

Kongenitalna katarakta

Kajo Bućan^{1*}, Diana Bućan^{2*}, Martina Paradžik Šimunović¹

Kongenitalna katarakta definirana je kao zamućenje leće koje je prisutno pri porodu (konatalna) ili se javi unutar prve godine života (infantilna) te je jedno od vodećih uzroka poremećaja vida dječje dobi. Perzistirajuće zamućenje vidne osi utječe na razvoj vidnoga puta i posljedično dovodi do slabovidnosti. Globalna incidencija kongenitalne katarakte iznosi od 0.63 do 9.74 na 10000 djece. Ovaj pregledni članak objedinjit će nove spoznaje o uzrocima, prevenciji i liječenju kongenitalne katarakte. Etiologija kongenitalne katarakte je izrazito heterogena, a uključuje brojne genetske i okolišne čimbenike. Važan čimbenik u adekvatnom liječenju predstavlja rana dijagnoza te je bitno provoditi prenatalne i postnatalne preventivne programe. Zlatnim standardom u liječenju smatra se mikroincizijska aspiracija katarakte u kombinaciji s prednjom i stražnjom kapsulotomijom, prednjom vitrektomijom i primarnom ugradnjom intraokularne leće (IOL). Navedena tehnika uz adekvatni postoperacijski multidisciplinarni pristup ima najmanju učestalost kroničnih komplikacija i ambliopije. Potrebna su dodatna istraživanja koja bi u potpunosti razjasnila kompleksnu patofiziološku osnovu i adekvatno liječenje na velikom uzorku djece s kongenitalnom kataraktom.

Ključne riječi: KATARAKTA; KONGENITALNO; IMPLANTACIJA INTRAOKULARNE LEĆE

UVOD

Kongenitalna katarakta definirana je kao zamućenje leće jednog ili oba oka koje je prisutno pri porodu (konatalna katarakta) ili se javi unutar prve godine života (infantilna katarakta) te je jedan od vodećih uzroka poremećaja vida dječje dobi [1–3]. Perzistirajuća katarakta utječe na razvoj vidnoga puta i posljedično vodi pojavi ambliopije [1]. Na rezultate liječenja ne utječe samo vrsta kirurškog zahvata već i vrijeme u kojem se katarakta dijagnosticira te kirurški zbrine [1]. Globalna incidencija kongenitalne katarakte iznosi od 0.63 do 9.74 na 10000 djece na temelju različitih kliničkih studija [4]. Prema podacima iz meta analize najveća incidencija je u Aziji 7.43 na 10000, u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) je 4.39 na

10000, a najniža je u Europi i iznosi 3.41 na 10000 djece [3,5]. Nadalje, prema podacima iz studije Fostera i suradnika, približno 200000 djece je sljepo zbog katarakte širom svijeta [6]. S obzirom na navedeno te izrazitu važnost ranog prepoznavanja i liječenja, Svjetska zdravstvena organizacija započela je globalni program “VISION 2020: the Right to Sight” kako bi se eliminirali uzroci sljepoće među kojima je i kongenitalna katarakta [7]. Ovaj program imao je ključnu ulogu u podizanju svijesti o važnosti zdravlja očiju, podržavajući nacionalne planove te programe za prevenciju sljepoće i slabovidnosti [7].

Ovaj pregledni članak ima za cilj objediniti sve nove spoznaje o uzrocima, prevenciji i liječenju kongenitalne katarakte.

¹Klinika za očne bolesti, Klinički bolnički centar Split, Spinčićeva 1, Split

²Specijalistička ordinacija medicine rada Diana Bućan, dr.med., Vukovarska 167b, Split

* Autori su dali jednaki doprinos izradi i konačnom oblikovanju ovog rada.

ETIOLOGIJA

Kongenitalna katarakta ima heterogeni spektar uzroka i zato je važan multidisciplinarni pristup kao bi se u potpunosti razjasnila njezina etiologija [2,8]. Oko jedne trećine izoliranih kongenitalnih katarakti su genetski posredovane, od kojih je autosomno dominantni najčešći oblik nasljeđivanja [5, 9, 10]. Prema podacima iz mrežne karte kromosoma i referentne baze podataka *Cat-map*, poznato je više od 80 gena i lokusa koji su povezani s nasljednim oblicima katarakte [11]. Genetsko testiranje nažalost nije uvijek jednako dostupno u cijelome svijetu, ali u suvremeno vrijeme određivanja točnog poretka nukleotida u molekuli DNK metodom sekvenciranja sljedeće generacije (NGS, engl. *Next-Generation Sequencing*) u oko 90 % bilateralnih katarakta može se jasno odrediti genetski uzrok [12, 13]. Među kongenitalnim kataraktama u kojih je jasno razjašnjena genetska osnova, oko 45 % pokazuje mutacije u kristalinu, 16 % u koneksinima, oko 12 % u čimbenicima rasta, 5 % u razgradnji proteina, 5 % u membranskim proteinima, 5 % u intermedijarnom filamentu proteina te oko 8 % u ostalim genima [14]. Kristalini su pretežno strukturalni proteini, čine oko 90% proteina leće i imaju važnu ulogu u prozirnosti leće [3]. Najčešća mutacija u γ -kristalinu (CRYG) utječe na topljivost i stabilnost kristalnih proteina te posljedično smanjuje prozirnost leće uzrokujući kongenitalnu kataraktu [3, 15]. Također, treba naglasiti kako kongenitalna katarakta može biti prisutna u sklopu multisistemskih bolesti [16]. Sindromski oblici kongenitalne katarakte uključuju kromosomske abnormalnosti, mitohondrijske poremećaje, poremećaje ponavljanja tripleta i složene genetske poremećaje kao što je dijabetes [13, 17].

Nadalje, treba naglasiti važan utjecaj ostalih čimbenika na pojavnost katarakte uključujući intrauterine infekcije, izloženost radioaktivnom zračenju, traume, lijekove, metaboličke bolesti te ostale oftalmološke poremećaje (mikroftalmija, aniridija, retinitis pigmentosa, perzistentni hiperplastični primarni vitreus, ROP) [18]. Virus rubele je najčešća kongenitalna infekcija koja uzrokuje kataraktu u cijelom svijetu te je infekcija virusom rubele karakterizirana klasičnim trijasom: gluhoća, katarakta i srčane malformacije [13]. Ostali infektivni uzroci uključuju CMV, toksoplazmozu,

HSV 1 i 2 te je u dijagnostičkom procesu važno napraviti probir na TORCH [13].

PREVENTIVNI PROBIRI

Još jednom treba naglasiti važnost rane dijagnoze kao ključnog čimbenika, budući da je vrijeme operacije jedan od glavnih čimbenika koji utječu na ishod liječenja [14]. Sustavni probiri postoje u cijelom svijetu, jer se pri rođenju vrlo jednostavnim pregledom prosvjetljavanjem oftalmoskopom može utvrditi jasan (ili zamagljen uslijed katarakte) crveni refleks očne pozadine - fundusa oka [14, 18]. Također, sve važniju ulogu u ranom dijagnosticiranju ima prenatalni ultrazvuk gdje se već u 13 do 14 tjedana trudnoće može jasno vizualizirati leća kao kružni hiperehogeni prsten s anehogenim središtem. Ultrazvučna metoda prikaza orbite i leće fetusa trebala bi biti dio rutinskog pregleda fetalne anatomije te bi se tako na vrijeme postavila dijagnoza kongenitalne katarakte i eventualnog pridruženog sindroma [19]. Navedene metode probira mogu značajno utjecati na smanjenje rizika od ambliopije, s obzirom na to da se po uspostavljanju dijagnoze preporučuje žurna kirurška intervencija unutar prva dva mjeseca života [20].

LIJEČENJE

Liječenje pedijatrijske katarakte izrazito je zahtjevnije nego kod odraslih pacijenata [13]. Dječje oko ima veću elastičnost lećne kapsule te sklere, kao i povećanu mitotičku aktivnost lećnih epitelnih stanica koje dovode do sekundarne opacifikacije kapsule leće, a time i vidne osi nakon operacije katarakte. Važno je pravilno procijeniti rizik ranog kirurškog zahvata i adekvatnog razvoja vidnoga puta kako bi se spriječio posljedični razvoj ambliopije. Postoje različiti kirurški pristupi, ali danas se smatra da je mikroincizijska aspiracija katarakte u kombinaciji s prednjom i stražnjom kapsulotomijom, prednjom vitrektomijom i ugradnjom primarne intraokularne leće (IOL) zlatni standard u liječenju kongenitalne katarakte [13, 14]. Međutim, adekvatan izbor IOL-a sljedeći je ključni korak koji dodatno podiže složenost samoga zahvata. Ugradnja IOL-a u djece mlađe od 2 godine i dalje je predmet diskusije u znanstveno-stručnim krugovima unatoč sve većim dokazima o sigurnosti navedene procedure. Recentna metaanaliza koja se

temelji na 675 operiranih očiju ukazuje na bolju vidnu oštrinu u pacijenata kojima je ugrađena primarna IOL u usporedbi s onima kojima nije ugrađena intraokularna leća te su ostali afakični, a dioptrijska se postoperacijski korigira kontaktnim lećama [21]. Dodatni rizik predstavlja skupina dojenčadi mlađih od 7 mjeseci kod kojih se i dalje savjetuje ne ugraditi IOL i ostaviti oko u afakiji s obzirom na veliki rizik postoperacijskih komplikacija uključujući intraokularne upale, glaukom i zamućenje stražnje kapsule [13,14]. U slučaju implantacije IOL-a potrebno je adekvatno izabrati odgovarajuću leću te se danas najčešće koristi savitljiva hidrofobna akrilna leća, budući da ostaje stabilna i dovodi do manje incidencije infekcije te zamućenja stražnje kapsule [22]. Također, s obzirom na kontinuirani aksijalni rast oka u pedijatrijskoj populaciji, adekvatni izračun snage IOL-a i dalje stvara velike kontroverze [13, 14]. Najčešće korištene formule su Holladay 1 and SRK/T za izračun IOL-a za pedijatrijske oči [23]. Međutim, manje od 50 % djece bilo je unutar 1,00 dioptrije od ciljane refrakcije s refrakcijskim pogreškama u rasponu od +5,00 do -19,00 dioptrijski nakon 5 godina od ugradnje IOL-a [14]. Konačno, konzervativni pristup liječenja može doći u obzir kod centralnih zamućenja blažeg intenziteta i perifernih zamućenja s farmakološkim izazivanjem midrijaze kako bi ulazak svjetlosti u oko bio optimalniji, a tim i fotostimulacija fotoreceptora žute pjege. Također, kod nekih metaboličkih bolesti, npr. galaktozemije, modifikacija prehrane i nadoknada enzima može imati pozitivan učinak na prestanak napredovanja ili čak povlačenje katarakte [13].

POSTOPERACIJSKO ZBRINJAVANJE

S obzirom na izrazitu složenost kirurškog zahvata i odabira IOL-a važno je sagledati dosadašnje spoznaje o postoperacijskim komplikacijama. U pokušaju adekvatnog usuglašavanja provedeno je istraživanje u kojem su sudjelovali oftalmolozi iz različitih centara odgovarajući na pitanja iz strukturiranih Delphi upitnika kako bi identificirali područja konsenzusa i neslaganja u liječenju pedijatrijske-kongenitalne katarakte. Proces se sastojao od složenih upitnika i sastanaka, a upitnici od kombinacije pitanja iz preoperativnog, intraoperativnog i postoperativnog liječenja pedijatrijske katarakte. Konsenzus je postignut na 85/108

(78,7 %) pitanja, a neslaganje je postojalo za preostala 23 (21,3 %) pitanja. Najviše dvojbe i neslaganja bilo je o kriterijima minimalne dobi za ugradnju primarne IOL i formuli za izračun IOL-a [24]. Odgovor na navedeno je i dalje nejasan s obzirom na izrazito mali broj znanstvenih dokaza i objavljenih studija s dugoročnim praćenjem operiranih pacijenata. Najčešća dugoročna komplikacija je zamućenje vidne osovine gdje incidencija iznosi od 4 do 100 %, ovisno o tome je li izvedena stražnja kapsulotomija s prednjom vitrektomijom. Sekundarna Nd:YAG laserska kapsulotomija je opcija u slučaju da nije provedena primarna kapsulotomija [25]. Delphi panel postignuo je konsenzus da je najbolji pristup u djece mlađe 5 godina primarna stražnja kapsulektomija uz prednju vitrektomiju, s obzirom na to da smanjuje rizik od epitelne proliferacije leće [25,26]. Sljedeći korak u liječenju je farmakološki pristup tijekom i nakon operacije kako bi se reducirao upalni rizik uključujući steroide, antibiotike i midrijatike [25]. Najčešće je korištena kombinacija topičke primjene moksifloksacina, 1 % prednizolona i 0.5–1 % atropina.

Ključnu ulogu u daljnjem liječenju ima pravovremena vidna rehabilitacija i prevencija ambliopije. Potrebna je suradnja multidisciplinarnog oftalmološkog tima (dječjeg oftalmologa-strabologa, oftalmologa s užom specijalizacijom kirurga prednjeg očnog segmenta, specijalista za kontaktne leće, te optičara s roditeljima i djecom) kako bi se uspostavilo pravovremeno, individualizirano i kontinuirano praćenje pacijenata s kongenitalnom kataraktom [26].

ZAKLJUČAK

Kongenitalna katarakta je rijetko stanje u kojem se nalazi izrazito složena heterogena skupina bolesti s genetskim uzrocima i okolišnim čimbenicima rizika te je posljedično važan multidisciplinarni pristup. Danas je poznato više od 80 gena i lokusa koji utječu na razvoj kongenitalne katarakte. Rano prepoznavanje ima ključnu ulogu u adekvatnom liječenju i prevenciji kroničnih posljedica. Kirurško liječenje je zlatni standard liječenja te adekvatni izbor i ugradnja IOL-a predstavlja ključni korak u prevenciji postoperativnih komplikacija. U znanstvenim krugovima i dalje nema potpunog konsenzusa o sljedećim pitanjima: minimalna dob za bilateralnu primarnu implantaciju IOL-a, adekvat-

na formula za izračun snage IOL-a, vrsta IOL-a, postoperativno medikamentozno liječenje i gornja dobna granica za izvođenje stražnje kapsulotomije i prednje vitrektomije [24]. S obzirom na navedeno potrebna su dodatna multicentrična istraživanja koja bi u potpunosti razjasnila kompleksnu patofiziološku osnovu i adekvatno liječenje na velikom uzorku djece s kongenitalnom kataraktom.

LITERATURA

1. Singh R, Barker L, Chen SI, Shah A, Long V, Dahlmann-Noor A. Surgical Interventions for Bilateral Congenital Cataract in Children Aged Two Years and Under. *Cochrane Database Syst Rev.* 2022;2022:CD003171. doi: 10.1002/14651858.CD003171.pub3.
2. Chan WH, Biswas S, Ashworth JL, Lloyd C. Educational Paper: Congenital and Infantile Cataract: Aetiology and Management. *Eur J Pediatr.* 2012;171(4):625–630.
3. Wang KJ, Wang JX, Wang J, Da Li M, Zhang JS, Mao YY, Wan XH. Congenital Coralliform Cataract Is the Predominant Consequence of a Recurrent Mutation in the CRYGD Gene. *Orphanet J Rare Dis.* 2023;18:doi:10.1186/s13023-023-02816-0.
4. Sheeladevi S, Lawrenson JG, Fielder AR, Suttle CM. Global Prevalence of Childhood Cataract: A Systematic Review. *Eye (Basingstoke).* 2016;30(9):1160–1169.
5. Wu X, Long E, Lin H, Liu Y. Prevalence and Epidemiological Characteristics of Congenital Cataract: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep.* 2016;6:28564. doi: 10.1038/srep28564.
6. Foster A, Gilbert C, Rahi J. Epidemiology of Cataract in Childhood: A Global Perspective. *J Cataract Refract Surg.* 1997;23(5):601–604. doi:10.1016/S0886-3350(97)80040-5.
7. Abdulhussein D, Abdul Hussein M. WHO Vision 2020: Have We Done It? *Ophthalmic Epidemiol.* 2023;30(6):331–339.
8. Lloyd IC, Goss-Sampson M, Jeffrey BG, Kriss A, Russell-Eggitt I, Taylor D. Neonatal Cataract: Aetiology, Pathogenesis and Management. *Eye (Lond).* 1992;6(3):184–196.
9. Messina-Baas O, Cuevas-Covarrubias SA. Inherited Congenital Cataract: A Guide to Suspect the Genetic Etiology in the Cataract Genesis. *Mol Syndromol.* 2017;8(1):58–78.
10. Nowak M, Górczyńska J, Dyda M, Mazur K, Zimna K, Zajac-Pytrus H. Congenital Cataracts – a Literature Review. *Pediatr Pol.* 2023;98(5):326–331.
11. Shiels A. Through the Cat-Map Gateway: A Brief History of Cataract Genetics. *Genes (Basel).* 2024;15:doi:10.3390/genes15010001.
12. Patel A, Hayward JD, Tailor V, Nyanhete R, Ahlfors H, Gabriele C, Jannini TB, Abbou-Rayyah Y, Henderson R, Nischal KK, et al. The Oculome Panel Test: Next-Generation Sequencing to Diagnose a Diverse Range of Genetic Developmental Eye Disorders. *Ophthalmology.* 2019;126(6):888–907. doi:10.1016/j.optha.2018.12.050.
13. Bell SJ, Oluonye N, Harding P, Moosajee M. Congenital Cataract: A Guide to Genetic and Clinical Management. *Ther Adv Rare Dis.* 2020;1. doi: 10.1177/2632013620954094.
14. Bremond-Gignac D, Daruich A, Robert MP, Valleix S. Recent Developments in the Management of Congenital Cataract. *Ann Transl Med.* 2020;8(23):1545–1545. doi: 10.21037/atm-20-3033.
15. Ji F, Koharudin LMI, Jung J, Gronenborn AM. Crystal Structure of the Cataract-Causing P23T Γ D-Crystallin Mutant. *Proteins: Struct Funct Bioinformatics.* 2013;81(9):1493–1498. doi:10.1002/prot.24321.
16. Cassidy Taylor LD, Taylor D. Congenital Cataract and Multisystem Disorders. *Br J Ophthalmol.* 1999;83(4):421–429.
17. Simunović M, Paradžik M, Skrabić R, Unić I, Bućan K, Skrabić V. Cataract as Early Ocular Complication in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus. *Int J Endocrinol.* 2018;2018:6763586. doi:10.1155/2018/6763586.
18. Bućan K, Skelin S, Šimunović MP. Posebnosti operacijskog liječenja dječje sive mrežice. Split; 2018.
19. Qin Y, Zhong X, Wen H, Zeng Q, Liao Y, Luo D, Liang M, Tang Y, Guo J, Cao H, et al. Prenatal Diagnosis of Congenital Cataract: Sonographic Features and Perinatal Outcome in 41 Cases. *Ultraschall Med.* 2022;43(3):E125–E134. doi:10.1055/a-1320-0799.
20. Lambert SR, Lynn MJ, Reeves R, Plager DA, Buckley EG, Wilson ME. Is There a Latent Period for the Surgical Treatment of Children with Dense Bilateral Congenital Cataracts? *J AAPOS.* 2006;10(1):30–36. doi:10.1016/j.jaapos.2005.10.002.
21. Chen J, Chen Y, Zhong Y, Li J. Comparison of Visual Acuity and Complications between Primary IOL Implantation and Aphakia in Patients with Congenital Cataract Younger than 2 Years: A Meta-Analysis. *J Cataract Refract Surg.* 2020;46(3):465–473.
22. Wilson ME, Trivedi RH, Buckley EG, Granet DB, Lambert SR, Plager DA, Sinskey RM, Vasavada AR. ASCRS White Paper. Hydrophobic Acrylic Intraocular Lenses in Children. *J Cataract Refract Surg.* 2007;33(12):1966–1973. doi: 10.1016/j.jcrs.2007.06.047.
23. Lambert SR, Lynn MJ, Hartmann EE, DuBois, Drews-Botsch C, Freedman SF, Plager DA, Buckley EG, Wilson ME. Comparison of Contact Lens and Intraocular Lens Correction of Monocular Aphakia during Infancy: A Randomized Clinical Trial of HOTV Optotype Acuity at Age 4.5 Years and Clinical Findings at Age 5 Years. *JAMA Ophthalmol.* 2014;132(6):676–682. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2014.531.
24. Serafino M, Trivedi RH, Levin AV, Wilson ME, Nucci P, Lambert SR, Nischal KK, Plager DA, Bremond-Gignac D, Kekunnaya R, et al. Use of the Delphi Process in Paediatric

Cataract Management. Br J Ophthalmol. 2016;100(5):611-615. doi:10.1136/bjophthalmol-2015-307287.

25. Kletke SN, Mireskandari K, Ali A. Update on Pediatric Cataract Surgery and the Delphi Panel Paper. Curr Ophthalmol Rep. 2018;6(4):207-216.
26. Lin H, Long EP, Chen JJ, Liu ZZ, Lin ZL, Cao QZ, Zhang XY, Wu XH, Wang QW, Lin DR, et al. Timing and Approaches in Congenital Cataract Surgery: A Four-Year, Two-Layer

Randomized Controlled Trial. Int J Ophthalmol. 2017;10(12):1835-1843. doi:10.18240/ijo.2017.12.08.

Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. sc. **Kajo Bućan**, dr.med

Klinika za očne bolesti

Klinički bolnički centar Split, Spinčićeva 1, 21000 Split

e-mail: kajobucan@gmail.com

SUMMARY

Congenital cataract

Kajo Bućan, Diana Bućan, Martina Paradžik Šimunović

A congenital cataract is defined as lens opacity present at birth (conatal) or occurring within the first year of life (infantile) and is one of the leading causes of childhood visual impairment. Persistent opacity of the visual axis affects the development of the visual pathway and consequently leads to amblyopia. The global incidence of congenital cataracts ranges from 0.63 to 9.74 per 10,000 children. This review article summarizes recent knowledge about the causes, prevention, and treatment of congenital cataracts. The etiology of congenital cataracts is highly heterogeneous and involves numerous genetic and environmental factors. Early diagnosis is crucial for effective treatment, making the implementation of prenatal and postnatal preventive programs essential. The gold standard for treatment is microincisional cataract aspiration, combined with anterior and posterior capsulotomy, anterior vitrectomy, and primary implantation of an intraocular lens (IOL). With an appropriate postoperative multidisciplinary approach, this technique has the lowest incidence of chronic complications and amblyopia. Further research is needed to fully elucidate the complex pathophysiological mechanisms and optimize treatment strategies in a large cohort of children with congenital cataracts.

Key words: CATARACT; CONGENITAL; LENS IMPLANTATION, INTRAOCULAR

Infantilni glaukom – mogućnosti kirurškog liječenja

Robert Stanić, Martina Paradžik Šimunović*

Kongenitalni glaukom je izrazito rijetka bolest koja vodi do trajnog gubitka vida u mladoj životnoj dobi te je izrazito važno rano prepoznavanje i adekvatno liječenje. Prevalencija u Europi se kreće 1 na 10000 do 18000 živorođene djece. S obzirom na izrazitu heterogenost vrsta glaukoma potrebno je adekvatno klasificirati glaukom dječje dobi. Primarni kongenitalni glaukom je najčešćih uzrok glaukoma u onih pacijenata koji nemaju pridružene sindrome ili bolesti. Najčešće se prezentira sa simptomima fotofobije, blefarospazma i suzenja oka. Temeljni pristup u liječenju kirurško liječenje. Postoje različiti kirurški pristupi, a najčešće se koriste tehnike operacije očnog kuta – goniotomije, filtracijske operacije te ugrađivanje očnih drenažnih sustava. S obzirom na izrazitu složenost kliničke dijagnoze i kirurškog liječenja potrebno je dijete uputiti u adekvatnu ustanovu treće razine kako bih se spriječilo trajno oštećenje vida.

Ključne riječi: NOVOROĐENČE; GLAUKOM; KONGENITALNE ABNORMALNOSTI; INTRAOKULARNI TLAK; FILTRACIJSKA KIRURGIJA; TRABEKULEKTOMIJA

UVOD

Kongenitalni glaukom je izrazito rijetka bolest, a koja je povezana s povišenim intraokularnim tlakom (IOP, engl. *intraocular pressure*) te postepeno dovodi do sljepoće (1). Dijagnostički i terapijski pristup je zahtjevan te je izrazito važno rano prepoznavanje i adekvatno liječenje (2). Prevalencija u Europi se kreće 1 na 10000 do 18000 živorođene djece (3). Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije 1994. godine 300 000 djece diljem svijeta imalo je kongenitalni glaukom, od kojih je 200 000 bilo slijepo zbog posljedica kongenitalnog glaukoma (4). Prema novijim studijama smatra se da dječji glaukom uzrokuje oko 5 % sljepoće u svijetu u populaciji djece i adolescenata (2).

DEFINICIJA DJEČJEG GLAUKOMA

U Tablici 1 prikazana je definicija glaukoma dječje dobi prema međunarodnoj CGRN (engl. *The Collaborative Glaucoma Research Network*) klasifikaciji (5).

KLASIFIKACIJA

U Tablici 2 prikazana je klasifikacija dječjeg glaukoma prema međunarodnoj CGRN klasifikaciji (5, 6).

Primarni kongenitalni glaukom

Primarni kongenitalni glaukom (PKG) se smatra jedan od najčešćih glaukoma u pedijatrijskoj po-

* Klinika za očne bolesti, Klinički bolnički centar Split, Spinčičeva 1, Split

Tablica 1. Definicija glaukoma dječje dobi

Pedijatrijska populacija – djeca i adolescenti u dobi do 18 godina
Potrebna su dva ili više od sljedećeg:
• Intraokularni tlak: >21 mmHg
• Vidno polje: ponovljivi defekt vidnog polja koji je u skladu s glaukomskom optičkom neuropatijom bez drugog vidljivog razloga za defekt vidnog polja.
• Aksijalna duljina: progresivna miopija ili miopski pomak s povećanim dimenzijama oka koje nadmašuju normalan rast.
• Rožnica: nalazi uključujući Haabove strije, promjer rožnice >11 mm u novorođenčadi, >12 mm u djece mlađe od 1 godine i >13 mm u djece starije od 1 godine.
• Optički živac: progresivno povećanje omjera čašice i diska, asimetrija čašice i diska od 0,2 kada su optički diskovi slične veličine i žarišni stanjivanje ruba.
Visoka sumnja na glaukom u djetinjstvu potrebno je najmanje jedno od sljedećeg:
• Intraokularni tlak: >21 mmHg u dva odvojena navrata
• Vidna polja: sumnjiv defekt vidnog polja za glaukom
• Aksijalna duljina: povećana aksijalna duljina u postavci normalnog IOP-a
• Rožnica: povećani promjer rožnice u uvjetima normalnog IOP-a
• Optički živac: sumnjiv izgled optičkog diska za glaukom

pulaciji, koji nije povezan s drugim sindromima i bolestima (7). Klinički se prezentira sa simptomima fotofobije, blefarospazma i suzenja oka, ali klinički simptomi mogu biti prekriveni te se često kasno prepoznaju (2). Prema podacima velike longitudinalne studije iz Danske u trajanju od više godina nije pokazana značajna razlika dijagnostičkom vremenu u navedenom razdoblju što ukazuje na potrebu uvođenja standardiziranog pedijatrijskog probira (2). Ovisno o dobi u kojoj se prezentira glaukom PKG možemo podijeliti na neonatalni/novorođenčadi (0-1 mjesec), infantilni (>1-24 mjeseca) i kasni (>2 godine) (5). PKG najčešće se nasljeđuje autosomno recesivno, ali se može javiti kao sporadična slučaj (6). Mutacija u genu CYP1B1 je najčešći uzrok koji u potpunosti ne objašnjava kompleksni patofiziološki mehanizam nastanka PKG (6). Glavnu ulogu u etiopatogenezi nastanka PKG ima neadekvatno razvijanja izlaznih putova očne vodice, osobito u trabekularnoj mreži (6). Prema recentnom preglednom članku brojni drugi geni utječu na nastanak PKG uključujući LTBP2, MYOC, COL1A1, FOXC1, TEK i ANGTP1 što ukazuje na moguću baza za genetskom terapijom (8). Važno je naglasiti da s obzirom na to da se većinom radi o obiteljski povezanom PKG, potrebna su dodatna istraživanja koja bi uz pomoć molekularne genetike i primjene sekvenciranja cijelog egzoma i sekvenciranja sljedeće generacije (NGS,

Tablica 2. Klasifikacija dječjeg glaukoma

Primarni dječji glaukom:
• Primarni kongenitalni glaukom
• Juvenilni glaukom otvorenog kuta
Sekundarni dječji glaukom:
• Glaukom povezan s ne stečenim očnim anomalijama (npr. Axenfeld-Riegerova anomalija/sindrom, Petersova anomalija, aniridija, ...)
• Glaukom povezan s ne stečenim sistemskom bolešću ili sindromom (npr. Downov sindrom, metaboličke bolesti, Sturge-Weber sindrom, ...)
• Glaukom povezan sa stečenim stanjem (npr. uveitis, trauma, induciran steroidima, tumori i retinopatija nedonoščadi)
• Glaukom nakon operacije katarakte

engl. *next generation sequencing*) mogla dodatno razjasniti etiologiju i složeni patofiziološki mehanizam nastanka glaukoma (8).

Liječenje primarnog kongenitalnog glaukoma

Primarni terapijski pristup je adekvatno kirurško liječenje. Postoje različiti kirurški pristupi a najčešće se koriste tehnike operacije očnog kuta, filtracijska operacija i ugrađivanje očnih drenažnih sustava (4). Operacija očnog kuta, goniotomija, provodi se kod glaukoma koji nisu udruženi s drugim očnim anomalijama. Izvodi se kod rožnica koje omogućuju dobru vidljivost očnog kuta, dok su kod djece s edematoznim rožnicama kontraindicirane. Uspjeh goniotomije iznosi 30 - 90 % prema različitim autorima. Trabekulotomija i trabekulektomija su alternative goniotomiji, pogotovo u slučajevima kornealnog edema. Trabekulektomija je prvi izbor u liječenju juvenilnog glaukoma, dok kod liječenja PKG pripada zahvatima druge linije, odnosno kada je potrebno znatno snižavanje IOT kako bi se održao razvoj vidnog živca i vidnog puta. Sve više je publikacija u kojima se kombiniraju zahvati kod PKG poput duboke sklerektoimije i trabekulotomije – trabekulektomije te pokazuju usporedive rezultate. Kombinirana operacija duboke sklerektoimije poboljšava vizualizaciju Schlemmovog kanala kod narušene limbane anatomije prisutne kod PKG kako bi se sigurnije učinila trabekulotomija te time poboljšala uspješnost zahvata (9). Kombiniranim zahvatom postiže se prosječno snižavanje IOT od 12 mm Hg kod PKG. Komplikacije koje prate ovaj zahvat su pojava krvarenja u prednjoj očnoj sobici – hifema, zatim perforacija korijena šarenice ili cilijarnog tijela. Također kod operacija na očima koje su buftalmične,

sklera je vrlo osjetljiva te postoji rizik oštećenja iste. Dodatno, upotreba sredstava za modulaciju cijeljenja rane poput anti metabolita 5-fluorouracil i mitomicin C, doprinosi uspjehu kirurške operacije kod PKG.

Vrijedne terapijske alternative kod liječenja PKG su glaukomijski drenažni sustavi. Navedeni uređaji sastoje se od cjevčice kroz koju se drenira očna vodica te od drenažnog prostora – pločice koja se smješta u prostor ispod konjunktive. Same cjevčice mogu biti s valvularnim mehanizmom kako bi se spriječila postoperativna hipotonija. Najpoznatiji drenažni sustavi su Molteno, Baerveldt i Ahmed valvularni implantati (4). Kod PKG drenažni implantati se mogu koristiti kao druga linija kirurškog liječenja. U usporedbi s trabekulektomijom, djeca liječena s drenažnim implantima postižu više razine postoperativnog IOT te zahtijevaju dodatnu topičku medikamentoznu terapiju. Sam uspjeh drenažnih implantata u prvoj postoperativnoj godini iznosi 80 % dok u dugotrajnom praćenju uspjeh je oko 50 % (4). Komplikacije koje su povezane s korištenjem drenažnih uređaja su kontakt cjevčice s endotelom rožnice, razvoj katarakte i odignuće mrežnice.

ZAKLJUČAK

Kongenitalni glaukom je izrazito rijetko stanje. Prema recentnoj studiji *Gussona i sur.* na vizualni ishod PKG značajno utječe dob u trenutku postavljanja dijagnoze i pravovremenoga liječenja (1). Uz pravovremenu dijagnozu i liječenje progresija PKG može biti usporena u 90 % slučajeva u prvoj postoperativnoj godini, odnosno 70 % nakon deseto-godišnjeg liječenja, te do 58 % u dugogodišnjem praćenju od 35 godina. Najpovoljniji rezultati se postižu ako se operacija izvede unutar prve godine života. Dijagnoza bolesti iza druge godine života povezana je s 50 % uspješnosti liječenja bilo kod kasne prezentacije bilo kod kasnog postavljanja dijagnoze. Unatoč kirurškom zbrinjavanju, liječenje PKG nije gotovo s operativnim zahvatom te djeca trebaju tretmane vizualne rehabilitacije,

prevencije slabovidnosti i korekcije refraktivnih grešaka koje su često udružene s glaukomom poput miopije i astigmatizma. Potrebno je u što kraćem roku postaviti dijagnozu te uputiti dijete u adekvatnu ustanovu treće razine kako bih se spriječilo trajno oštećenje vida.

LITERATURA

1. Gusson E, Chemello F, Longo R, et al. Primary congenital glaucoma surgery: outcomes and visual function. *Int Ophthalmol.* 2021;41(12):3861–3867. doi:10.1007/s10792-021-01957-0.
2. Pedersen KB, Kappelgaard P, Kessel L, Sandfeld L, Zibrandtsen N, Bach-Holm D. Primary congenital glaucoma in Denmark, 1977–2016. *Acta Ophthalmol.* 2020;98(2):182–189. doi:10.1111/aos.14207.
3. Grehn F. New horizons in congenital glaucoma surgery. *Acta Ophthalmol.* 2018;96(1):7–8.
4. Gagrani M, Garg I, Ghatge D. Surgical interventions for primary congenital glaucoma. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2020;(6).
5. Thau A, Lloyd M, Freedman S, Beck A, Grajewski A, Levin AV. New classification system for pediatric glaucoma: implications for clinical care and a research registry. *Curr Opin Ophthalmol.* 2018;29(4):385–394.
6. Mandal AK, Chakrabarti D, Gothwal VK. Approach to primary congenital glaucoma: a perspective. *Taiwan J Ophthalmol.* 2023;13(4):451–460.
7. Coviltir V, Marinescu MC, Urse BM, Burcel MG. Primary congenital and childhood glaucoma – A complex clinical picture and surgical management. *Diagnostics.* 2025;15(1).
8. Ling C, Zhang D, Zhang J, Sun H, Du Q, Li X. Updates on the molecular genetics of primary congenital glaucoma (Review). *Exp Ther Med.* 2020;20(2):968–977. doi:10.3892/etm.2020.8767.
9. Bayoumi NHL. Deep sclerectomy in pediatric glaucoma filtering surgery. *Eye (Basingstoke).* 2012;26(11):1548–1553. doi:10.1038/eye.2012.215.

Adresa za dopisivanje:

Prim. **Robert Stanić**, dr. med

Klinika za očne bolesti

Klinički bolnički centar Split, Spinčičeva 1, 21000 Split

e-mail: rstanic@kbsplit.hr

S U M M A R Y

Infantile glaucoma – surgical treatment options

Robert Stanić, Martina Paradžik Šimunovic

Congenital glaucoma is an extremely rare disease that leads to permanent vision loss at a young age and early recognition and adequate treatment are extremely important. The prevalence in Europe ranges from 1 in 10,000 to 18,000 newborns. Given the extreme heterogeneity of glaucoma types, it is necessary to adequately classify childhood glaucoma. Primary congenital glaucoma is the most common cause of glaucoma in those patients who do not have associated syndromes or diseases. It most often presents with symptoms of photophobia, blepharospasm, and tearing of the eye. The first approach to treatment is surgical treatment. There are different surgical approaches, and the most commonly used techniques are angle surgery - goniotomy, filtration surgery, and implantation of glaucoma drainage devices. Given the extreme complexity of clinical diagnosis and surgical treatment, it is necessary to refer the child to an adequate third-level institution in order to prevent permanent visual impairment.

Key words: INFANT; GLAUCOMA; CONGENITAL ABNORMALITIES; INTRAOCULAR PRESSURE; FILTERING SURGERY; TRABECULECTOMY

Elektrofiziologija oka u dijagnostici refrakcijskih anomalija u predškolskoj dobi

Irena Marković, Ivona Bućan*

Elektrofiziološko testiranje pruža objektivnu i neinvazivnu metodu za procjenu vidnog puta. Korištenje različitih elektrofizioloških postupaka omogućava precizno karakteriziranje i lokaliziranje disfunkcije unutar vidnog sustava. U oku novorođenčeta gustoća neurona u mrežnici je znatno manja, ali je manja i gustoća sinapsi kako u mrežnici, tako i u vidnom korteksu. Iz tih razloga je vidna oštrina novorođenčeta znatno manja u odnosu na odraslu osobu. Razvoj vida je određen nezrelošću cjelokupnog sustava od mrežnice, foveje, preko vidnog puta do mozga.

Refrakcija predstavlja odnos moći prelamanja zraka svjetlosti u oku i dužine oka bez upotrebe akomodacije. Tako razlikujemo emetropiju (normalno stanje zdravog oka) i ametropiju (aksijalnu ili refrakcijsku).

Proces emetropizacije najosjetljiviji je na pogreške već u prvoj godini života ako je podražaj za razvoj retinokortikalnih veza neadekvatan, što zbog deprivacije vidnog signala, zamagljenja koje je prisutno kod anisometropije ili otklona vidne osi kod strabizma. Refrakcijske greške pogoduju razvoju brojnih ozbiljnih bolesti oka. Bolesti oka koje uzrokuju slabovidnost nerijetko su udružene s visokom ametropijom.

Svaka od elektrofizioloških pretraga procjenjuje funkciju vidnog puta na njegovom određenom nivou. U elektrofiziološke pretrage vidne funkcije pripadaju:

1. VEP (vidni evocirani potencijali)
2. ERG (elektroretinogram)
3. EOG (elektrookulogram)
4. PERG (pattern ili strukturirani elektroretinogram)
5. FERG (fokalni elektroretinogram)
6. MERG (multifokalni elektroretinogram)

Studije pokazuju da refraktivne greške zamagljuju stimulans i uzrokuju defokusiranje, što dovodi do značajnih promjena u VEP-u (P100 latencija i amplituda). VEP-ovi su posebno osjetljivi na miopiju u usporedbi s hipermetropijom, iako obje vrste refraktivnih grešaka uzrokuju defokusiranje slike na retini.

* Klinika za očne bolesti, KBC Split, Spinčićeva 1, 21000 Split

Prilikom provođenja VEP testova, ključno je ispraviti refraktivne greške jer one značajno utječu na interpretaciju rezultata. Stoga bi korekcija refraktivnih grešaka trebala biti neizostavan dio ovih testova.

Ključne riječi: ELEKTROFIZIOLOGIJA; REFRAKTIVNA GREŠKA; EVOCIRANI POTENCIJALI, VIDNI

Elektrofiziologija u oftalmologiji predstavlja skup dijagnostičkih metoda koje omogućuju objektivno ispitivanje funkcije oka, optičkog živca i vidnog puta. s obzirom na to da vidni put spada u domenu dvije specijalnosti, oftalmologa do hijazme i neurologa nakon hijazme nužna je uska suradnja u procjeni i dijagnozi problema vidnog puta. Ove metode se koriste za procjenu funkcionalnosti različitih dijelova vidnog puta od mrežnice do vidnog korteksa. Važno je ukazati na pravilne indikacije za primjenu pojedine elektrofiziološke pretrage, jer su one dugotrajne i zahtjevne za pacijenta, ali ukoliko su pravilno indicirane, kliničaru mogu pružiti važnu smjernicu pri postavljanju pravilne dijagnoze.

Postupci i njihove funkcije uključuju:

1. VEP (vidni evocirani potencijali): proučava funkciju vidnog puta unutar mozga,
2. ERG (elektroretinogram): mjeri funkciju štapića i čunjića (fotoreceptora), kao i aktivnosti svih slojeva mrežnice,
3. EOG (elektrookulografija): procjenjuje sučelje fotoreceptora i RPE-a (retinalnog pigmentnog epitela),
4. PERG (pattern ili strukturirani elektroretinogram): procjenjuje funkciju makule i retinalnih ganglijskih stanica.

Ove metode igraju ključnu ulogu u razlikovanju poremećaja koji mogu imati slične simptome, pomažući u razlikovanju benignih od ozbiljnih, progresivnih od stacionarnih stanja. Također, elektrofiziološko testiranje osobito je korisno u slučajevima sumnje na neorganski gubitak vida. Kako genotipiziranje napreduje i nove terapije se razvijaju, očekuje se da precizno elektrofiziološko fenotipiziranje postane sve važniji alat u dijagnozi i planiranju liječenja.

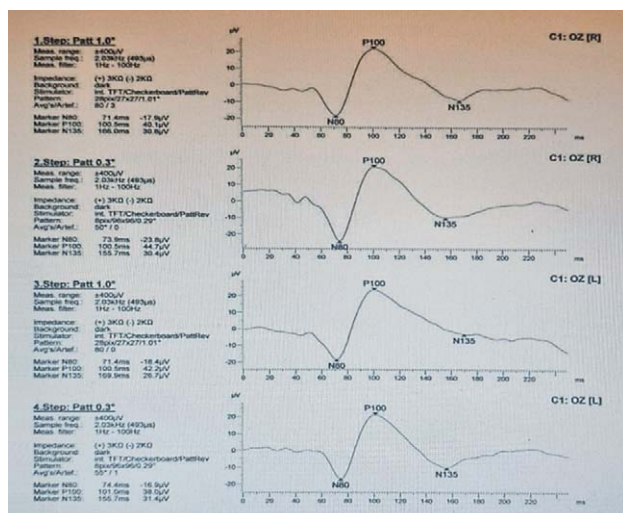
Elektrofiziološki pregled pedijatrijskog pacijenta može biti od velike kliničke važnosti. Osim objektivne prirode podataka koje pružaju elektrofiziološki testovi, potencijalna nemogućnost djeteta

da precizno opisuje svoje simptome, ako ih uopće može opisati, stavlja elektrofiziologiju u povoljan položaj dijagnostičke važnosti. Osim toga, postupak je neinvazivan. Formalna klinička analiza uloge elektrofiziologije u pedijatrijskoj praksi pokazala je značajan utjecaj na upravljanje liječenjem.

ELEKTROFIZIOLOŠKE TEHNIKE

Elektrofiziološka testiranja, poput elektroretinograma (ERG), vidnih evociranih potencijala (VEP) i fokalnog elektroretinograma (PERG), u dijagnostici gubitka vida kod djece upotrebljavamo u slučajevima:

1. Gubitak oštine vida: kod djece bi gubitak oštine vida trebao biti smatran organskim (tj. povezanim s medicinskim stanjem) dok se ne dokaže suprotno, osim ako ne postoje znakovi koji upućuju na neorganski uzrok. Najčešći uzroci mogu se prepoznati pažljivim oftalmološkim pregledom, no u slučajevima retinalnih distrofija ili neorganskog gubitka vida, elektrofiziološki testovi su ključni.
2. Ambliopija: djeca za koju se sumnja da imaju ambliopiju (slabovidnost) obično se upućuju na elektrofiziološko testiranje kako bi se isključile druge patologije. To je posebno važno ako se oština vida ne poboljšava unatoč liječenju. Pattern VEP može pomoći u procjeni težine i praćenju učinkovitosti liječenja.
3. Neorganski gubitak vida: za djecu sa sumnjom na neorganski gubitak vida (poput lažnog gubitka vida ili funkcionalnog gubitka vida), VEP se može koristiti za procjenu funkcije vizualnog puta. Pattern VEP je posebno koristan, ali ga može biti teško tumačiti u slučajevima neorganskog gubitka. Elektrofiziološki testovi mogu pokazati normalne rezultate u slučajevima funkcionalnog gubitka vida, no abnormalnosti u rezultatima sugeriraju stvarnu disfunkciju.



Slika 1. Izgled krivulje P100 vala

Uspješno elektrofiziološko testiranje zahtijeva pažljivo praćenje fiksacije i akomodacije, a suradnja djeteta je ključna. Ako djeca izgube koncentraciju, to može utjecati na rezultate testa. Elektrofiziološko testiranje može razlikovati različite vrste disfunkcije vidnog puta, uključujući nasljedne retinalne bolesti i druge poremećaje. Pomaže u dijagnozi i daje uvid u prognozu, razlikujući progresivne i stacionarne bolesti. Ovo je ključno za planiranje liječenja, osobito kako se razvijaju genetske i terapijske intervencije.

Iz ovoga možemo zaključiti kako je elektrofiziološko testiranje ključno u upravljanju sumnjivim disfunkcijama vidnog puta kod djece i vjerojatno će igrati sve važniju ulogu kako se personalizirani tretmani za nasljedne bolesti budu razvijali. Prilagodbe metoda snimanja i strategija testiranja VEP-a mogu biti potrebne za optimizaciju rezultata kod dojenčadi, male djece ili osoba s invaliditetom. U načelu, preporučene metode stimulacije i snimanja prema ISCEV standardu mogu se primijeniti na sve populacije. Međutim, kod ovih posebnih populacija mogu biti potrebne izmjene kako bi se poboljšala kvaliteta i relevantnost rezultata za dijagnozu i procjenu vida u skladu s kliničkim pitanjem.

Svi VEP-ovi kod djece trebali bi se usporediti s odgovarajućim vrijednostima normalnog raspona za dob. Kod snimanja VEP-a kod dojenčadi trajanje mjerenja trebalo bi povećati zbog povećane latencije vršnog vala u ovoj populaciji. Do šeste godine života latencija glavnog pozitivnog vala VEP-a kod uzorka s većim kvadratićima ($>30'$) obično je unutar 10 % vrijednosti odraslih.

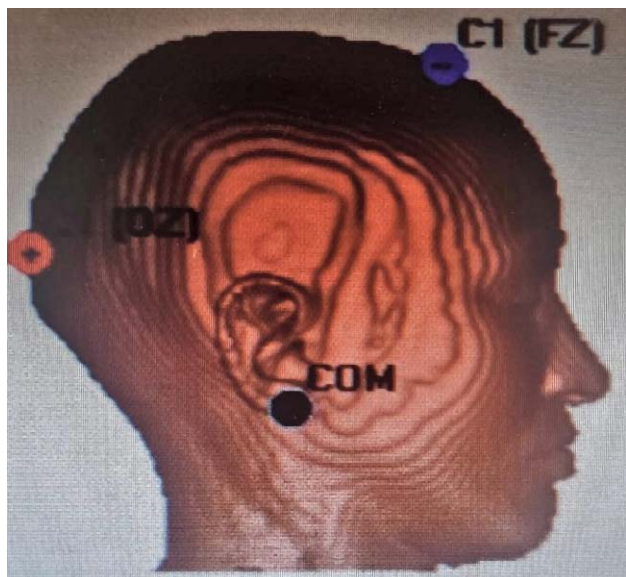


Slika 2. Aparat za elektrofiziološko testiranje Tomay 1000

VEP-ove treba snimati kada je dojenče ili dijete u stanju pažnje. Izravna interakcija s djetetom može pomoći u održavanju pažnje i fiksacije, a korisno je imati dva ispitivača: jednog za rad s djetetom i drugog za kontrolu prikupljanja podataka. Pri snimanju je bitno strpljivo pratiti fiksaciju djeteta i prekidati snimanje ako dijete izgubi fiksaciju iz bilo kojeg razloga. Redoslijed prezentacije podražaja trebao bi biti fleksibilan kako bi se osiguralo da se odgovori najvažniji za dijagnostičko pitanje dobiju unutar raspona pažnje pojedinog djeteta.

Binokularna stimulacija uzoraka, koja potiče pažnju i fiksaciju, može biti korisna za procjenu ukupne vizualne funkcije. Monokularno testiranje na barem jednom podražaju poželjno je za procjenu funkcije svakog oka zasebno. Posebno je važno dobiti ponovljive odgovore od djece kako bi se osigurala pouzdanost izmjerenih signala i isključila mogućnost artefakata.

Kao i kod odraslih, dodatni kanali snimanja mogu biti važni za dijagnozu disfunkcija hijazme i posthijazmalnih puteva. Kada se VEP-ovi uzorka ne mogu pouzdano snimiti, provodimo testiranje s pomoću bljeskalice (FLASH), koje manje ovisi o suradnji. Kod pacijenata s nistagmusom ili nestabilnom fiksacijom, VEP-ovi uzorka trebaju se tu mačiti s oprezom. Stimulacija s početkom/prekidom uzorka može biti korisna za privlačenje pažnje djece i obično je robusnija u slučajevima nistagmusa, no valni oblici mijenjaju se s dobi. Pri



Slika 3. Položaj elektroda pri snimanju VEP-a

analizi dobivenih rezultata bi trebali bilježiti razinu suradnje i budnosti djeteta.

MULTIKANALNO SNIMANJE ZA PROCJENU SREDIŠNJIH VIDNIH PUTEVA

Multikanalno snimanje nije pokriveno standardom. Međutim, disfunkcija intrakranijalnih vidnih puteva može zahtijevati multikanalno snimanje za točnu dijagnozu. Uz disfunkciju na ili iza optičke hijazme ili u prisutnosti pogrešnog usmjerenja hijazme (kao što se vidi u okularnom albinizmu), postoji asimetrična distribucija VEP-a na stražnjem dijelu tjemena. Disfunkcija hijazme daje “preokrenutu” asimetriju, pri čemu nalaz na stimulaciji jednog oka pokazuje asimetričnu distribuciju koja se obrnuto pojavljuje kada je stimulirano drugo oko. Preporučujemo korištenje tri aktivne elektrode, dvije lateralne elektrode smještene na O1 i O2, te treće srednje aktivne elektrode na Oz. (slika 3.) Ovaj trokanalni montažni raspored osigurava najbolji raspored za simultano otkrivanje disfunkcija prehijazmalnih i središnjih vizualnih puteva.

Mjerenje i analiza VEP-a

Standardizacija mjerenja i analiza VEP-a ključna je za postizanje usporednih podataka diljem svijeta. Iako standardizacija treba osigurati slične odgovore među laboratorijima, svaki laboratorij mora uspostaviti vlastite normalne vrijednosti koristeći vlastite parametre stimulacije i snimanja. Kon-

strukcija normalnog uzorka za laboratorijske norme trebala bi uključivati čimbenike kao što su dob, spol i interokularna asimetrija. Podatke za odrasle nije moguće ekstrapolirati na pedijatrijske ili starije populacije. Analiza interokularne amplitude i latencije vršnog vala povećava osjetljivost VEP-a na monokularne bolesti.

Analiza VEP-a

Pri snimanju treba izmjeriti i prikazati najmanje dva snimanja svakog uvjeta VEP-a. Izvještaji o standardiziranim uvjetima trebali bi specificirati parametre stimulacije: veličinu polja podražaja, snagu bljeska ili prosječnu luminiscenciju uzorka, veličinu i kontrast elementa uzorka, učestalost stimulacije, oči koje su testirane i parametre snimanja, postavke filtra te lokacije pozitivnih (tj. aktivnih), negativnih (tj. referentnih) i indiferentnih (tj. uzemljenih) elektroda.

Oznake trebaju jasno naglašavati polaritet, vrijeme u milisekundama i amplitudu u mikrovoltima. Svi VEP izvještaji, čak i za nespecifične odgovore trebaju uključivati normativne vrijednosti i granice normalnog raspona.

Tumačenje VEP-a

Abnormalnosti VEP-a nisu specifične i mogu se pojaviti u širokom rasponu oftalmoloških i neuroloških problema. Tumačenje treba uključivati izjave o normalnosti i abnormalnosti rezultata u odnosu na normativne podatke, kao i usporedbu između očiju ili s prethodnim zapisima. Vrsta abnormalnosti u odgovoru treba biti opisana i povezana s kliničkom slikom i drugim vizualno-elektrodijagnostičkim rezultatima. Prije nekoliko desetljeća utvrđena je sustavna povezanost između neuralnih pražnjenja u vizualnom korteksu izazvanih kratkotrajnom izloženošću očiju uzorkovanim stimulansima i jasnoće retinalne slike. Ustanovljeno je da je amplituda negativnog vala (pojavljuje se 80-100 ms nakon stimulacije) i pozitivnog vala (pojavljuje se 180-200 ms nakon stimulacije) veća kod jasne retinalne slike, a smanjuje se s degradacijom slike kod različitih refraktivnih vrijednosti.

Amplituda odgovora kod VEP-a uzrokovanog izmjenom uzoraka ovisi o sposobnosti vizualnog sustava da razluči uzorak i o stupnju fokusa slike na retini. Čak i male refraktivne greške smanjuju

prosječnu amplitudu valova VEP-a. Količinski dokazi pokazuju da se amplituda VEP-a smanjuje za 25 % po dioptriji defokusa, a ovaj efekt je primjetan već kod grešaka od 0,25 dioptrija.

Utjecaj refraktivnih grešaka na vizualno izazvane potencijale

VEP je osjetljiviji na male refraktivne promjene u usporedbi s ERG-om, vjerojatno zato što VEP snažno naglašava područje foveje, dok ERG predstavlja šire područje stimulacije cijelog vidnog polja.

U prošlosti je značajna pažnja bila posvećena korištenju uzoraka šahovske ploče za proučavanje VEP-a kod ispitanika kao tehnike za određivanje refraktivnih grešaka. Registrirano je smanjenje amplitude VEP-a uslijed refraktivnih grešaka. Pokazano je da postoji veće smanjenje amplitude VEP-a za male količine pozitivne dioptrijske defokuse nego za negativne, što ukazuje na to da ispitanici djelomično akomodiraju za negativne leće. Smanjenje amplitude kod nekorrigiranih refraktivnih grešaka događa se brže za pozitivne leće, vjerojatno zbog djelomične korekcije defokusa kroz akomodativni napor.

Refraktivne greške zamagljuju stimulans, a zamućenje vida također je pokazalo smanjenje amplitude konvencionalnog VEP-a izazvanog izmjenom uzoraka. Veće refraktivne greške, uvedene s pomoću oftalmoloških leća, uzrokuju da valovi gotovo potpuno izgube amplitudu.

Preporučljivo je da svaka elektrodijagnostička obrada počne VEP-om jer on snima funkciju cjelokupnog vidnog puta. Poslije VEP-a može se učiniti neka od drugih pretraga (ERG, EOG) u cilju određivanja razine na kojoj se nalazi blok u vidnoj funkciji.

ISCEV standardni protokol za provođenje strukturiranog VEP-a:

- monokularna stimulacija s barem dvije različite prostorne frekvencije (60 i 15 min),
- vremenska frekvencija: 1-3 promjene u sekundi,
- svaka sumacija mora imati minimum 64 stimulacije, osim u pedijatrijskom protokolu i stimulacija se mora dvaput ponoviti.

Višekanalno snimanje (lateralni odvodi) nije uključeno u opisani standard snimanja VEP-a. ISCEV

standardni protokol za opisivanje nalaza strukturiranog VEP-a:

- uvjeti snimanja moraju biti izloženi: parametri stimulacije, koje je oko snimano, položaja elektroda,
- polaritet valova mora biti jasno indiciran, preporuča se da se pozitivni valovi prezentiraju kao otklon prema gore od izoelektrične linije,
- svi VEP nalazi moraju imati istaknute normative (raspone normalnih vrijednosti), određene za svaki uređaj.

Korištenjem navedenih protokola i interpretacijom dobivenih parametara može se s pomoću VEP-a pomoći i u diferencijaciji je li poremećaj vidne funkcije na razini vidnog živca ili makule (makulopatija ili ambliopija) (Slike 1, 2 i 3.).

ELEKTRORETINOGRAFIJA (ELEKTRORETINOGRAM)

ERG je snimka difuznog električnog odgovora na svjetlosni stimulus neuralnih i neneuralnih stanica retine. Pretraga nam daje odgovor fotoreceptora (štapića i čunjića) te Muellerovih i bipolarnih stanica retine. Stimulacija za ERG difuzni je svjetlosni podražaj (bljeskalica). Dakle, ERG ne korelira s vidnom oštrinom. Makula, koja je odgovorna za funkciju centra vidnog polja, čini svega oko 2 % retine. Da bi ERG postao patološki, mora biti oštećeno više od 30 % retine. U slučaju potpuno uništene makule, npr. eksudativnom makulopatijom, uz vidnu oštrinu manju od 0.3, ERG će biti posve uredan, ukoliko je ostatak retine uredne funkcije. Kod odraslih, ERG se bilježi koristeći rožnične elektrode, a podražaji se isporučuju putem Ganzfeld kupole. Ovaj pristup je primjenjiv na stariju djecu koja su sposobna razumjeti zahtjeve testiranja, no postoje dvije različite škole mišljenja u vezi s malom djecom ili dojenčadi. Neki pristupaju djeci kao malim odraslima i koriste iste tehnike; to obično zahtijeva ili suzdržavanje ili sedaciju kod nekih pacijenata. Drugi pristup smatra da su klinički podaci potrebni za malu djecu različiti od onih u odrasloj populaciji te da odgovori na manje složena pitanja, poput "Je li ovo dijete slijepo?" ili "Zašto ovo dijete ima nistagmus?", mogu omogućiti dobivanje klinički značajnih i zadovoljavajućih podataka korištenjem manje invazivnih tehnika, osobito korištenjem površinskih elektroda. Au-

torski pristup je prilagoditi postupke prema sposobnosti pacijenta za suradnju, koristeći pojednostavljeni protokol i površinske elektrode za malu djecu, a dulje postupke, Ganzfeld stimulaciju, rožnične elektrode i midrijazu na onoj djeci koja su sposobna podnijeti dulje, zahtjevnije protokole.

ERG odgovor na jasan bljesak u tamno prilagođenom oku sastoji se od dva glavna komponente, negativne a-valove i pozitivne b-valove. Prvih 10 ms a-valove odražava hipopolarizaciju fotoreceptora, a općenito smanjenje amplitude a-valove ukazuje na gubitak ili disfunkciju fotoreceptora. B-valovi, koji bi trebali biti veće amplitude, odražavaju aktivnost mrežnice nastalu nakon fototransdukcije, pretežno u vezi s depolarizacijom ON-bipolarnih stanica. ERG valni oblik u kojem je a-val očuvan, ali b-val pokazuje selektivno smanjenje amplitude, često tako da je amplituda b-valova niža od amplitude a-valova, poznat je kao negativni ili elektronegativni ERG. Negativni ERG ne znači da ERG nije detektiran, već da je valni oblik dominiran negativnom a-valom, što ukazuje na disfunkciju unutarnje mrežnice.

Klinički ERG se temelji na standardima i preporukama Međunarodnog društva za kliničku elektrofiziologiju vida (ISCEV). ISCEV standard za snimanje ERG-a definira standardni bljesak od 1,5–3,0 cd.s.m⁻². Odgovor specifičan za sustav štapića dobiva se pomoću standardnog bljeska koji je smanjen za 2,5 log jedinica u tamno prilagođenom oku. Tamno prilagođavanje, kako bi se uskladilo sa ISCEV standardom, zahtijeva najmanje 20 minuta u potpunosti tami i maksimalnu midrijazu.

Pri snimanju ERG-a, ISCEV je dao smjernice koje nalažu da se u cilju diferencijacije disfunkcije populacije retinalnih stanica pregled sastoji od sljedećih elemenata:

- odgovor štapića nakon minimalno 20 minuta adaptacije na mrak,
- maksimalni ili kombinirani odgovor (štapića i čunjića), slijedi po snimanju odgovora štapića, također je potrebna prethodna adaptacija na mrak,
- oscilatorni potencijali nakon adaptacije na mrak,
- odgovor čunjića nakon minimalno 10 minuta adaptacije na svjetlo,
- 30 Hz flicker slijedi po snimanju odgovora čunjića, ili nakon jedne minute adaptacije na svjetlo.

Provođenje pretrage

ERG je pretraga koja također nije bolna, no zahtijeva stavljanje elektrode u kontakt sa suznim filmom. Postoji više vrsta ERG elektroda, no i one najmanje neugodne moraju se staviti u kontakt s površinom oka. Zato se, a i zbog dugotrajnosti (minimalno 45 minuta), ne može provesti kod djece mlađe od školske dobi. Za ERG moraju se širiti zjenice (midrijaza). Ukoliko se to ne smije ili ne može učiniti (npr. plitka prednja sobica), pregled se ne može učiniti. U tom slučaju kvantitativna analiza nalaza nije moguća jer nemogućnost provođenja midrijaze mijenja snimane parametre.

Glavne indikacije za ERG

Difuzne degenerativne bolesti retine glavna su indikacija za ERG. Najčešća bolest koja pripada u tu skupinu, a pri sumnji na koju je ERG obavezan, jest retinopatija pigmentoza (RP). U slučaju ove prirodne degenerativne bolesti retine svi odgovori u sklopu ERG-a su vrlo često ugašeni već u ranoj mladosti, prije nastupa zamjetnih subjektivnih smetnji (suženje vidnog polja i noćno sljepilo). Važno je naglasiti da RP je klinička manifestacija disfunkcije retinalnih fotoreceptora, koja može biti posljedica mutacije na više različitih genskih lokusa. Zbog toga se RP može javiti u velikom rasponu težine kliničke slike, i posljedično prognoze po vid pacijenta. Liječnicima preporučujemo da svakako na ERG upute svakog pacijenta koji se žali na vrlo slab vid noću te suženo vidno polje.

ELEKTROOKULOGRAM (EOG)

EOG mjeri električni potencijal mirovanja između rožnice i stražnjeg dijela oka. Taj se potencijal mijenja ovisno o osvjetljenosti retine. EOG korelira s funkcijom retinalnog pigmentnog epitela (RPE). RPE u oku u elektrofiziološkom smislu ima funkciju koja bi se mogla usporediti s izolacijom u bateriji (što je RPE lošije funkcije, razlika u potencijalu mirovanja između prednjeg i stražnjeg dijela oka je manja ili je nema).

Pri snimanju EOG-a mjeri se potencijal mirovanja pri sakadičnim pokretima očiju (pacijent gleda lijevo–desno u naizmjenično upaljene LED diode u kupoli uređaja). Elektrode se stavljaju na kožu vanjskih i unutarnjih očnih uglova. Poželjno je, ali nije nužno, da zjenice budu proširene. Pregled nije bolan, no traje dugo: barem 45 minuta.



Slika 4. Položaj elektroda pri snimanju ERG-a



Slika 5. Položaj elektroda pri snimanju ERG-a

Standardni ISCEV protokol za provedbu EOG-a sastoji se od sljedećih elemenata:

- 15 min adaptacija na svjetlo (preadaptacija)
- 15 min snimanje u mraku (adaptacija na mrak)
- 15 min snimanje na svjetlu (adaptacija na svjetlo).

Rezultat pretrage izražava se kroz Ardenov indeks (najveći potencijal na svjetlu/najmanji potencijal u mraku. Vrijednost Ardenovog indeksa manja od 1.65 smatra se patološkom).

Glavne indikacije za EOG

Glavna i, ako se može učiniti ERG, jedina apsolutna klinička indikacija za EOG je Bestova viteliformna makularna distrofija. Mb. Best degenerativna je promjena makule koja se evidentno manifestira na cijeli RPE jer je kod ove bolesti EOG uvijek patološki (Ardenov indeks manji od 1.65). ERG je kod

Bestove bolesti uredan. Ostale degeneracije retine (retinopatija pigmentoza prije ostalih) također imaju patološki EOG nalaz. Međutim, ukoliko je već učinjen ERG, EOG neće dati nikakve dodatne kliničke informacije koje bi pridonijele diferencijalnoj dijagnostici. Jedino kada se zbog npr. nemogućnosti stavljanja elektroda pod vjeđu kod ERG-a (upala, ozljeda oka i sl.) ERG ne može učiniti, indicirano je umjesto njega učiniti EOG. ERG daje daleko više kliničkih podataka od EOG-a, koji daje tek jedan broj (Ardenov indeks) (Slike 4, 5).

Smatralo se da ne postoji jasno definirana pretpostavka o tome kako refraktivne greške (RE) zapravo mijenjaju vizualno izazvane potencijale mozga, tj. jesu li VEP-ovi više pogođeni miopijom (kratkovidnošću) ili hipermetropijom (dalekovidnošću) te u kojoj mjeri stupanj refraktivne greške utječe na VEP-ove.

Nedavne studije istražile su povezanost između smanjene vidne oštine (VA) i VEP-a. Istraživači su zabilježili da smanjenje VA ili kontrasta stimulusa produžuje latenciju VEP-a i smanjuje amplitudu, vjerojatno zato što ove uvjete prati pogoršanje sposobnosti vizualnog prepoznavanja objekata.

Jedno istraživanje analiziralo je P100 latenciju VEP-a kod pacijenata s miopijom podijeljenih u tri skupine prema stupnju refrakcije (blaga, umjerena i jaka miopija). Rezultati su pokazali značajnu negativnu korelaciju između refrakcije i P100 latencije kod miopije.

ZAKLJUČAK

Istraživanja pokazuju da refraktivne greške mogu zamućivati podražaje i stvarati defokus, što dovodi do značajnih promjena u parametrima VEP-a, osobito latenciji i amplitudi P100. Čini se da miopija ima veći utjecaj na VEP-ove u usporedbi s hipermetropijom, iako obje pogreške utječu na stupanj defokusiranja slike.

Nedostaje jasnost u vezi s relativnim utjecajem miopije i hipermetropije na VEP-ove zbog isključenja viših stupnjeva refraktivnih grešaka u postojećim studijama. Potrebna su dodatna longitudinalna istraživanja s većim uzorkom ametropične populacije kako bi se razjasnilo kako retinalni defokus utječe na promjene u VEP-u.

Kad se koriste uzorci s obrascima u VEP studijama, važno je pacijenti testirati uz ispravljanje refraktivnih grešaka kako bi se osigurali točni rezultati.

Ključno je uzeti u obzir refrakciju i vizualnu oštrinu pri tumačenju rezultata VEP-a, budući da refraktivne greške mogu iskriviti nalaze.

LITERATURA

1. Fishman GA, Birch DG, Holder GE, Brigell MG. Electrophysiologic testing in disorders of the retina, optic nerve, and visual pathway. *American Academy of Ophthalmology, Monograph Series*. 2001;2.
2. Odom JV, Bach M, Barber C, et al. Visual evoked potentials standard. *Doc Ophthalmol*. 2004;108(2):115-23.
3. Marmor MF, Holder GE, Seeliger MW, Yamamoto S. Standard for clinical electroretinography (2004 update). *Doc Ophthalmol*. 2004;108(2):107-14.
4. Marmor MF, Zrenner E. Standard for clinical electroretinography.
5. American Encephalographic Society. Guideline thirteen: Guidelines for standard electrode position nomenclature. *J Clin Neurophysiol*. 1994;11(1):111-3.
6. Carr RE, Siegel IM. Electrodiagnostic testing of the visual system. Philadelphia: F.A. Davis Co.; 1990.
7. Goldie WD. Visual evoked potentials in paediatrics – Normal. In: Holmes GL, Moshe SL, Jones HR Jr., editors. *Clinical Neurophysiology of Infancy, Childhood, and Adolescence*. Philadelphia: Elsevier; 2006. p. 206-15.
8. Walsh TJ. Electrodiagnosis — Visual evoked potential. In: Walsh TJ, editor. *Neuro-Ophthalmology: Clinical Signs and Symptoms*. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1985. p. 303-40.
9. Harter MR, White CT. Effects of contour sharpness and check-size on visually evoked cortical potentials. *Vision Res*. 1968;8(6):701-11.
10. Millodot M, Riggs LA. Refraction determined electrophysiologically. Responses to alternation of visual contours. *Arch Ophthalmol*. 1970;84(3):272-8.
11. Duffy FH, Rengstorff RH. Ametropia measurements from the visual evoked response. *Am J Optom Arch Am Acad Optom*. 1971;48(10):717-28.
12. Ludlam WM, Meyers RR. The use of visual evoked responses in objective refraction. *Trans N Y Acad Sci*. 1972;34(2):154-70.
13. Sherman J. Visual evoked potential (VEP): Basic concepts and clinical applications. *J Am Optom Assoc*. 1979;50(1):19-30.
14. Collins DW, Carroll WM, Black JL, Walsh M. Effect of refractive error on the visual evoked response. *Br Med J*. 1979;1(6161):231-2.
15. Bobak P, Bodis-Wollner I, Guillory S. The effect of blur and contrast on VEP latency: Comparison between check and sinusoidal and grating patterns. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1987;68(3):247-55.
16. Zislina NN, Sorokina RS. Possibilities of the use of visual evoked potentials in the evaluation of visual acuity in congenital myopia in children. *Vestn Oftalmol*. 1992;108(5):35-7.
17. Bartel PR, Vos A. Induced refractive errors and pattern electroretinograms and pattern visual evoked potentials: Implications for clinical assessments. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1994;92(2):78-81.

Adresa za dopisivanje:

Prim. Irena Marković, dr. med.
Klinika za očne bolesti, KBC Split
Spinčičeva 1, 21000 Split
e-mail: irena.markovic@pmx.hr

SUMMARY

Electrophysiology of the eye in diagnosis of refractive anomalies in preschool children

Irena Marković, Ivona Bućan

Electrophysiological testing provides an objective and non-invasive method for assessing the visual pathway. The use of various electrophysiological procedures allows for precise characterization and localization of dysfunction within the visual system. In a newborn's eye, the density of neurons in the retina is significantly lower, as is the density of synapses both in the retina and the visual cortex. For these reasons, the visual acuity of a newborn is significantly lower compared to an adult. The development of vision is determined by the immaturity of the entire system from the retina, and fovea, through the visual pathway to the brain.

Refraction represents the relationship between the refractive power of light rays in the eye and the length of the eye without the use of accommodation. Thus, we differentiate between emmetropia (the normal state of a healthy eye) and ametropia (axial or refractive).

The process of emmetropization is most sensitive to errors during the first year of life if the stimulus for the development of retinocortical connections is inadequate, due to deprivation of visual signals, blurriness present in anisometropia, or deviation of the visual axis in strabismus. Refractive errors favor the development of numerous serious eye diseases. Eye diseases that cause visual impairment are often associated with high ametropia.

Each of the electrophysiological examinations assesses the function of the visual pathway at a specific level. The electrophysiological tests of visual function include:

1. VEP (visual evoked potentials)
2. ERG (electroretinogram)
3. EOG (electrooculogram)
4. PERG (pattern or structured electroretinogram)
5. FERG (focal electroretinogram)
6. MERG (multifocal electroretinogram)

Studies show that refractive errors blur the stimulus and cause defocusing, leading to significant changes in VEP (P100 latency and amplitude). VEPs are particularly sensitive to myopia compared to hyperopia, although both types of refractive errors cause image defocusing on the retina.

When conducting VEP tests, it is crucial to correct refractive errors as they significantly affect the interpretation of results. Therefore, the correction of refractive errors should be an indispensable part of these tests.

Key words: ELECTROPHYSIOLOGY; REFRACTIVE ERRORS; EVOKED POTENTIALS, VISUAL

Retinopatija nedonoščadi – suvremene smjernice, dijagnostika i liječenje

Darko Batistić, Ana Vučinović, Ante Krešo, Boško Jakšić*

Retinopatija nedonoščadi (ROP) jedan je od češćih uzroka sljepoće u razvijenim zemljama unatoč dostupnim metodama liječenja, a incidencija ove bolesti ondje je u porastu. ROP se razvija kroz dvije faze. U prvoj fazi nakon rođenja dolazi do usporene vaskularizacije retine i djelomične regresije postojećih krvnih žila, a potom slijedi druga faza – faza novog rasta žila potaknutog hipoksijom. Glavni rizični čimbenici za nastanak ROP-a su primjena kisika i mala gestacijska dob. Pretjerana oksigenacija utječe na razvoj ROP-a putem regulacije razine vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (VEGF). U prvoj fazi ROP-a, kisik potiskuje VEGF i time sprječava normalan rast krvnih žila, dok u drugoj hipoksičnoj fazi pretjerane količine VEGF-a potiču patološki rast žila. Inzulinu sličan čimbenik rasta I (IGF-1) smatra se ključnim čimbenikom ROP-a koji nije ovisan o oksigenaciji. CRYO ROP i ETROP studije pokazale su djelotvornost krioterapije i laserske fotokoagulacije u liječenju djece s ROP-om, pri čemu je laserska fotokoagulacija metoda izbora. Kirurško liječenje provodi se u kasnijim stadijima, no s lošim funkcionalnim ishodima. Djeca s ovim stanjem zahtijevaju dugoročno praćenje zbog mogućih komplikacija.

Ključne riječi: RETINOPATIJA NEDONOŠČADI; LASERSKA FOTOKOAGULACIJA; ČIMBENICI RASTA VASKULARNOG ENDOTELA; HIPOKSIJA; KRATKOVIDNOST

Retinopatija nedonoščadi (ROP, engl. *retinopathy of prematurity*) je vazoproliferacijski proces koji obuhvaća nezreli krvnožilni sustav mrežnice u nedonoščadi, a osobito u one izrazito male porođajne mase i niske gestacijske dobi, izložene terapiji kisikom.

PATOGENEZA

Normalni razvoj retine

U djece, razvoj retinalne vaskulature započinje oko 16. tjedna gestacije, kada mezenhim (prekursor krvnih žila) raste od područja optičkog diska do ora serate, koju nazalno doseže oko 8. mjeseca trudnoće, a temporalno nakon rođenja (1-3). Prema Ashtonovoj teoriji, posteriorno od ruba mezenhima stvara se primitivna, nezrela kapilar-na mreža (1).

Uloga oksigenacije u ROP-u

Campbell je 1951. primijetio povezanost između ROP-a i izlaganja kisiku. Godine 1956. provela se i studija pod vodstvom VE Kinsey, koja je potvrdila važnost oksigenacije u razvoju ROP-a.

Patofiziologija ROP-a

Ključna za razumijevanje retinopatije nedonoščadi je činjenica da fetus in utero živi u hipoksičnom okruženju, s postojanim PaO₂ od 22 do 24 mmHg, dok se kod zdrave donošene djece bilježi značajno viši PaO₂ (70-90 mmHg). Za očuvanje postojećih retinalnih krvnih žila i rast novih, neophodne su stabilne koncentracije VEGF-a (4). Razina proizvodnje VEGF-a ovisi o dostupnom kisiku u retinal-

*Klinika za očne bolesti, Klinički bolnički centar Split

nom tkivu: niske vrijednosti kisika potiču lučenje VEGF-a, a visoke ga potiskuju. Ako se nezrela retina trajno izloži hiperoksiji, nezrele krvne žile prestanu rasti. Produžena hiperoksemija dovodi do vazokonstrikcije i potom do vazobliteracije, jer krvne žile involuiraju zbog manjka VEGF-a. Nedostatak normalnog rasta krvnih žila ostavlja periferiju retine bez dostatne opskrbe krvlju.

Nakon nekoliko tjedana, avaskularna retina postaje ishemična i tako potiče proizvodnju VEGF-a. Ako je područje avaskularne retine relativno malo, razina VEGF-a ostaje u fiziološkim granicama pa se krvne žile razvijaju normalno. Ako je pak avaskularna zona opsežna, stvaraju se veće količine VEGF-a što uzrokuje stimulaciju nezrelih retinalnih žila koje se pupaju te tvore arteriovenske (AV) šantove duž granice između vaskularizirane i avaskularizirane retine (ROP stadiji 1 i 2). Ako VEGF stimulira normalnu vaskularizaciju u avaskularnom dijelu iza AV šantova, dolazi do regresije promjena. No, ekstremno velika područja bez krvnih žila još više podižu razinu VEGF-a, što može dovesti do AV šantova (stadij 3). Visoke razine VEGF-a mogu čak izazvati vazodilataciju i vijugavost krvnih žila stražnjeg pola (*plus* znak) te rubeozu šarenice. U stadiju 3 ROP-a krioterapija i laserski tretman usmjereni su na uklanjanje periferne avaskularne retine, čime se smanjuje produkcija VEGF-a. Proširena neovaskularizacija može rezultirati fibrovaskularnom proliferacijom, ožiljcima i ablacijom retine (stadiji 4 i 5).

Premda genetska predispozicija može povećati rizik za ROP, kao najznačajniji čimbenik rizika ipak se ističe hiperoksija kod nedonoščadi s vrlo malom porođajnom masom (4–12).

Rizični čimbenici

Studija CRYO ROP utvrdila je da na povećanje rizika posebno utječu niska porođajna masa, niža gestacijska dob, bijela rasa, višerotkinje te nezbrinjavanje u tercijarnoj ustanovi (13–20). Rizik nepovoljnih ishoda na makuli bio je veći u slučajevima zahvaćene zone I, pojave "*plus*" bolesti, većeg stupnja zahvaćenosti te brze progresije ROP-a, dok nije ovisio o "postkonceptijskoj" dobi pri nastanku ROP-a. Također se razmatralo i svjetlo kao mogući čimbenik rizika (5, 10, 21).

INTERNACIONALNA KLASIFIKACIJA ROP-A

Zadnjih se desetljeća pokazalo kako Reesova klasifikacija više nije u potpunosti zadovoljavajuća, jer ne opisuje dovoljno precizno rane aktivne stadije ROP-a (22). Stoga je 1984. 23 oftalmologa iz 11 zemalja osnovalo povjerenstvo i uvelo Internacionalnu klasifikaciju retinopatije nedonoščadi (ICROP) (23). Ova nova klasifikacija uključuje tri parametra:

- lokalizaciju bolesti na retini,
- zahvaćenu površinu i
- stadij abnormalne vaskularizacije.

Lokalizacija ROP-a dijeli se u tri zone.

Zona I obuhvaća stražnji krug oko vidnog živca i proteže se 2 promjera optičkog diska od središta makule u svim smjerovima. Krug s centrom na disku i radijusom jednakim udaljenosti do nazalne ora *serate* razlikuje zonu II od zone III. Granica između zone II i III nema jasno vidljivu strukturu na oku. Zonom III smatra se zahvaćenost isključivo temporalnog dijela retine (Slika 4).

Zahvaćena površina opisuje se u "satima". Prilikom pregleda oka, "3 sata" odnose se na nazalni dio desnog oka, a temporalni dio lijevog, dok je "9 sati" u desnom oku temporalno, a u lijevom nazalno.

Stadij ROP-a dijeli se u 5 stupnjeva.

- Stadij 1: tanka bijela demarkacijska linija koja odvaja vaskulariziranu retinu od avaskularne, a obično se čini bjelkastom i smještena je u ravni retine.
- Stadij 2: kada ta linija dobije volumen i uzdigne se iznad površine retine, označava se kao "greben".
- Stadij 3: kada je uz taj greben prisutno i fibrovaskularno proliferativno tkivo.
- Stadiji 4 i 5: ukazuju na djelomično, odnosno potpuno odvajanje retine.

Osnovni princip ICROP-a je da što je bolest posteriornije smještena i što je šire područje promjena, to je ROP teži.

Progresivnu vaskularnu abnormalnost koja se razvija uz navedene promjene prepoznamo po dilataciji i vijugavosti perifernih krvnih žila, širenju i

povećanoj vaskularizaciji šarenice, rigidnoj zjenici i zamućenju staklovine. Ako su takve promjene izražene, govorimo o “plus” bolesti. U klasifikaciji objavljenj 1984., stadij 4 ROP-a označava djelomično odvajanje mrežnice prouzročeno eksudacijom i/ili trakcijom. Godine 1987. taj je stadij proširen, pa se 4A odnosi na konkavno, trakcijsko, subtotalno odvajanje retine periferno, bez zahvaćanja makule (ekstrafoveolarno), dok 4B označava parcijalnu ablaciju mrežnice koja se proteže posteriorno i zahvaća makulu. Ako je ablacija retine totalna i u obliku lijevka, klasificira se kao stadij 5. Po potrebi, totalna se ablacija može podijeliti na anteriornu i posteriornu, a ultrazvuk pomaže u određivanju izgleda lijevka (24, 25). Premda je u većini slučajeva najčešći ishod ROP-a regresija s ili bez ožiljaka, Internacionalni odbor naglašava da je raznolikost tih promjena vrlo teško u cijelosti klasificirati.

KLINIČKO-PATOLOŠKE KORELACIJE STADIJA ROP-A

Stadij 1 – linija demarkacije

Predstavlja zadebljanje crte između normalno vaskularizirane i avaskularne retine. U anteriornoj zoni nastaju listići od vretenastih stanica, prekursora diferenciranog vaskularnog epitela (26, 27). Te stanice nalikuju normalnim fetalnim mezenhimalnim vretenastim stanicama, ali s naznakama hiperplazije, pa je linija klinički vidljiva.

Stadij 2 – greben

Nastaje daljnjim zadebljanjem linije iz stadija 1, uslijed dodatne proliferacije vretenastih stanica, čime greben poprima visinu, širinu i volumen (26, 27). Retinalne lezije stadija 1 i 2 najčešće regrediraju, ostavljajući minimalan ili nikakav ožiljak (Slika 1).

Stadij 3 – greben s ekstraretinalnim fibrovaskularnim proliferacijama

Određen je neovaskularnim rastom krvnih žila usko povezanim s posteriornim rubom grebena, koje se šire u staklovinu, okomito na razinu retine. Foos te novonastale krvne žile naziva “ekstraretinalnim vaskularizacijama”, koje postoje u tri oblika: plakoidne, polipoidne i pedunkularne (Slika 2) (27).

Stadij 4 – subtotalno odvajanje retine

Početni nabori retine formiraju se oko grebena, a kondenzacija staklovine uzrokuje povlačenje retine naprijed, prema leći. Najčešće su radijalne trakcijske sile ograničene na temporalni kvadrant, dovodeći do povlačenja temporalne retine nazalno (Slike 2 i 3).

Stadij 5 – totalna ablacija retine

Kako se retina sve više skuplja i povlači prema naprijed i prema centru, zarola se u oblik svitka, što može odvojiti i posteriornu retinu. Vitrealna trakcija uzrokuje tipično progresivno odvajanje mrežnice koje karakterizira ROP (Slika 3) (28).

NALAZI KOD ROP-A U REGRESIJI

Kratkovidnost, astigmatizam i anizotropija

Kratkovidnost (miopija) čest je nalaz u nedonoščadi, čak i onoj bez razvijenog ROP-a (29–31). Incidencija miopije potvrđena je i u CRYO ROP istraživanju na velikom uzorku novorođenčadi s porođajnom masom <1251 g. Među ostalim rizičnim čimbenicima za razvitak refrakcijskih anomalija spominju se anizotropija, astigmatizam, prisutnost retinalnih nabora i foveolarna avaskularna zona. Mehanizam nastanka miopije kod ROP-a nije posve jasan – moguće je da se radi o produljenju očne jabučice, promjeni zakrivljenosti leće i rožnice ili kombinaciji. Oči s ROP-om liječene laserom pokazuju manju miopiju u usporedbi s onima tretiranim krioterapijom.

KASNE KOMPLIKACIJE ROP-A U REGRESIJI

Glaukom

Kwitko je procijenio da se sekundarni glaukom javlja u 30 % očiju s teškim oblikom ROP-a (32–34). Mehanizam akutnog glaukoma zatvorenog kuta vjerojatno se povezuje s nepravilnim položajem iridolentalne membrane uslijed retrolentalnih fibroglijalnih masa (33).

Ablacija retine

Može se razviti kao komplikacija ROP-a koji je regredirao, i to u djetinjstvu, tijekom adolescencije

ili kasnije u životu. Kako je ROP rizičan za vid tijekom cijelog života, bolesnike bi trebalo pratiti barem jednom godišnje. Takve su oči također u povećanom riziku za visoku miopiju; prema Tasmanu, u 80 % slučajeva prelazi i 6 dioptrija.

DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA

U ranim stadijima ROP-a glavni diferencijalni dijagnostički izazov je nasljedna eksudativna vitreo-retinopatija (FEVR) (35, 36). Popis ostalih stanja koja daju sliku leukokorije uključuje primarno hiperplastično staklasto tijelo, retinoblastom i Norriejevu bolest. Primarni hiperplastični vitreus kongenitalna je anomalija, često jednostrana, povezana s anomalijama prednjeg segmenta (npr. mikrokornea, plitka prednja sobica, produljeni cilijarni nastavci), dok stražnji segment može sadržavati vitrealne membrane te ostatke hijaloidne arterije. Retinoblastom je iznimno rijedak, ali ga valja uzeti u obzir (37, 38). Norriejeva bolest također je rijedak sindrom retinalne displazije, gluhoće i mentalne retardacije koji može oponašati ROP (39).

Zabilježeni su i slučajevi ROP-a kod djece rođene u terminu, normalne porođajne mase i bez dokazane terapije kisikom, no vjeruje se da je kod nekih takvih slučajeva zapravo riječ o nasljednoj proliferativnoj vitreoretinopatiji, pa je mogućnost ROP-a u onih bez prematuriteta ili niske porođajne mase ipak zanemariva.

Probir i praćenje nedonoščadi rizične za razvoj ROP-a

Probir i praćenje nedonoščadi rizične za razvoj ROP-a zahtijeva dobru suradnju oftalmologa i osoblja jedinica intenzivne neonatalne njege. Cilj je otkriti najranije stadije ROP-a i izbjeći nepotrebne preglede. CRYO ROP studija nije obuhvaćala djecu s porođajnom masom >1250 g, no druga su istraživanja utvrdila da se stadij 3 ne javlja kod djece >1500–1600 g, iako neki kliničari gornjom granicom ipak smatraju 2000 g (37).

Prema Palmeru, optimalno vrijeme za prvi pregled je između 7. i 9. tjedna života (40, 41). Autori CRYO ROP-a primijetili su da “postkonceptijska” dob djeteta (gestacijska + postnatalna) bolje odgovara vremenu nastanka promjena od same kronološke dobi. Britanska su istraživanja pokazala da se ROP iznimno rijetko javlja prije 31. postkoncep-

cijskog tjedna (38). Smjernice za screening koje predlažu Britanska udruga za perinatalnu medicinu i Zbor oftalmologa preporučuju preventivni pregled za svako dijete s porođajnom masom <1500 g, u dobi od 32. do 36. postkonceptijskog tjedna. U SAD-u, Američka udruga pedijatar, Američka udruga dječjih oftalmologa i strabologa te Američka akademija oftalmologa izdali su preporuke:

- Djeca s porođajnom masom <1500 g ili gestacijskom dobi <28 tjedana, kao i odabrana djeca s masom 1500–2000 g, a koja klinički nisu stabilna.
- Pregled se provodi binokularnom indirektnom oftalmoskopijom, a sve se promjene opisuju prema Internacionalnoj klasifikaciji retinopatije nedonoščadi.
- Prvi se pregled obavlja između 4. i 6. tjedna života ili između 31. i 33. postkonceptijskog tjedna – određuje neonatolog ili pedijatar. Ako se otkrije ROP koji zahtijeva liječenje, ono mora započeti unutar 72 sata od dijagnoze (42).

Rezultati CRYO ROP studije pružili su smjernice za daljnje praćenje nakon prvog pregleda (43, 44). Oči zahvaćene zonom II treba pratiti svaka 2 tjedna. “Granične” oči za terapiju (zona I, bilo koji stadij; zona II, stadij 2+ ili 3+ s manjom zahvaćenošću od one koja zahtijeva liječenje) kontroliraju se minimalno jednom tjedno. Ako su promjene u zoni I i još “ispod praga” za liječenje, preglede treba planirati i češće, budući da se ta forma ROP-a može vrlo brzo razvijati.

Oči u zoni III iznimno rijetko razviju ROP koji traži intervenciju, stoga se te oči prate jednom mjesečno. Oči bez ROP-a, ali s nezrelom vaskularizacijom, kontroliraju se svakih 1–2 tjedna (zona I), svaka 2 tjedna (zona II) ili svaka 3–4 tjedna (zona III). Praćenje se provodi dok se vaskularizacija ne dovrši i ne dosegne *ora seratu*, obično između 37. i 40. postkonceptijskog tjedna. U 90 % bolesnika involucija počinje oko 44. tjedna. Oči s blagim ROP-om prate se sve dok se ne razvije stadij koji zahtijeva liječenje ili dok se ne uoči regresija. Čak i nakon regresije, potreban je oprez jer ponekad može doći do reaktivacije i “dvostruke” linije demarkacije. U očiju s blagim ROP-om, kod kojih se stanje potpuno smirilo, refrakciju i motilitet potrebno je kontrolirati svakih 6–12 mjeseci zbog česte pojave miopije, astigmatizma i strabizma

(45–50). Minimalno jedan godišnji pregled potreban je i kada nema drugih abnormalnosti, zbog potencijalnog glaukoma ili ablacije mrežnice.

NAČIN PREGLEDA

Suradnja osoblja jedinice intenzivne neonatalne skrbi i oftalmologa je ključna. Za širenje zjenice obično se koristi ciklomidrijatik (cyclopentolate 0,2 % i phenylephrine 1 %), koji se kapaju 3 puta u razmaku od 10–15 minuta. Među rijetkim nuspojavama topikalnih midrijatika navode se hipertenzija i ileus. Nakon lokalne anestezije (proparokain), primjenjuje se sterilni retraktor za vjeđe. Ovisno o protokolu ustanove ili izboru liječnika, mogu se koristiti rukavice. Poželjna je prisutnost osoblja neonatološke jedinice zbog mogućih komplikacija poput bradikardije. Pregled započinje 30–45 minuta nakon ukapavanja midrijatika, binokularnom indirektnom oftalmoskopijom uz leću od 20 ili 28 dioptrija. Blaga skleralna depresija i rotacija oka malom sterilnom kukicom pomaže u potpunoj procjeni promjena na očnoj pozadini. Ako se uoči akutno pogoršanje ROP-a, oftalmolog treba o tome, kao i o mogućim načinima liječenja i prognozi, obavijestiti roditelje ili skrbnike, po mogućnosti u prisutnosti neonatologa, a informacije mogu biti i pismeno dostupne.

PROFILAKSA I TERAPIJA

Prevenција ROP-a počinje sprječavanjem preranog poroda. U CRYO ROP studiji, svaki dodatni tjedan intrauterinog razvoja smanjio je šansu za razvoj ROP-a za 19 % (16). Liječenje ROP-a može biti konzervativno i kirurško. Krioterapija je u početku bila osnovno konzervativno liječenje i njome se smanjio nepovoljan ishod bolesti s 43 % na 22 % (Cryo ROP study) (43). Potom je u 1990-ima laserska terapija pokazala još bolje rezultate, postavši prihvaćena kao alternativa krioterapiji (51). Laserski snop primjenjuje se na avaskularnu retinu, čime se ona metabolički “isključuje” te se tako snižava produkcija angiogenih čimbenika rasta (VEGF) u stražnjem segmentu oka, odgovornih za vazoproliferaciju i napredovanje ROP-a.

Uvođenje anti-VEGF lijekova u oftalmologiju 2007. (Block ROP i Beat ROP studije) (52) omogućilo je mnogim centrima primjenu ovog pristupa u terapiji ROP-a. Ranibizumab (Lucentis) je fragment monoklonskog protutijela usmjerenog

protiv VEGF-a kojeg je Američka agencija za hranu i lijekove prvog odobrila kao anti-VEGF agens za liječenje retinopatija nedonoščadi (53). Međutim, utjecaj tih lijekova na normalnu vaskularizaciju retine te moguće sustavne nuspojave još uvijek nisu u potpunosti istražene. U slučajevima odvajanja mrežnice (ablacije), terapijska se opcija sastoji od pars plana vitrektomije, kojom se uklanja staklovina (gel) iz oka i smanjuju trakcijske sile na mrežnicu (54).

ZAKLJUČAK

Retinopatija nedonoščadi velik je medicinski izazov koji zahtijeva suradnju neonatologa, pedijatra i oftalmologa. Unatoč ranom prepoznavanju i liječenju, gotovo 15 % djece ima slabiju vidnu oštrinu, a kod 10 % je i anatomske ishoda nepovoljan.

LITERATURA

1. Chang JW. Risk factor analysis for the development and progression of retinopathy of prematurity. *PLoS One*. 2019 Jul 18;14(7):e0219934.
2. Luty GA, McLeod DS. Development of the hyaloid, choroidal and retinal vasculatures in the fetal human eye. *Prog Retin Eye Res*. 2018 Jan;62:58–76.
3. Roth AM. Retinal vascular development in premature infants. *Am J Ophthalmol*. 1977 Nov;84(5):636–40.
4. York JR, Landers S, Kirby RS, Arbogast PG, Penn JS. Arterial oxygen fluctuation and retinopathy of prematurity in very-low-birth-weight infants. *J Perinatol*. 2004 Feb;24(2):82–7.
5. Avery GB, Glass P. Light and retinopathy of prematurity: what is prudent for 1986? *Pediatrics*. 1986 Sep;78(3):519–20.
6. Chow LC, Wright KW, Sola A; CSMC Oxygen Administration Study Group. Can changes in clinical practice decrease the incidence of severe retinopathy of prematurity in very low birth weight infants? *Pediatrics*. 2003 Feb;111(2):339–45.
7. Zeng G, Taylor SM, McColm JR, et al. Orientation of endothelial cell division is regulated by VEGF signaling during blood vessel formation. *Blood*. 2007 Feb 15;109(4):1345–52.
8. Geisen P, Peterson LJ, Martiniuk D, Uppal A, Saito Y, Hartnett ME. Neutralizing antibody to VEGF reduces intravitreal neovascularization and may not interfere with ongoing intraretinal vascularization in a rat model of retinopathy of prematurity. *Mol Vis*. 2008 Feb 11;14:345–57.
9. Simmons AB, Bretz CA, Wang H, et al. Gene therapy knockdown of VEGFR2 in retinal endothelial cells to treat retinopathy. *Angiogenesis*. 2018 Nov;21(4):751–64. Erratum in: *Angiogenesis*. 2018 Nov;21(4):765.

10. Kim SJ, Port AD, Swan R, Campbell JP, Chan RVP, Chiang MF. Retinopathy of prematurity: a review of risk factors and their clinical significance. *Surv Ophthalmol*. 2018 Sep-Oct;63(5):618-37.
11. Hartnett ME. Retinopathy of Prematurity: Evolving Treatment With Anti-Vascular Endothelial Growth Factor. *Am J Ophthalmol*. 2020 Oct;218:208-13. Erratum in: *Am J Ophthalmol*. 2021 Nov;231:213.
12. Becker S, Wang H, Simmons AB, et al. Targeted Knock-down of Overexpressed VEGFA or VEGF164 in Müller cells maintains retinal function by triggering different signaling mechanisms. *Sci Rep*. 2018 Jan 31;8(1):2003.
13. Campbell PB, Bull MJ, Ellis FD, Bryson CQ, Lemons JA, Schreiner RL. Incidence of retinopathy of prematurity in a tertiary newborn intensive care unit. *Arch Ophthalmol*. 1983 Nov;101(11):1686-8.
14. Charles JB, Ganthier R Jr, Appiah AP. Incidence and characteristics of retinopathy of prematurity in a low-income inner-city population. *Ophthalmology*. 1991 Jan;98(1):14-7.
15. Palmer EA, Flynn JT, Hardy RJ, et al. Incidence and early course of retinopathy of prematurity. The Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Ophthalmology*. 1991 Nov;98(11):1628-40.
16. Schaffer DB, Palmer EA, Plotsky DF, et al. Prognostic factors in the natural course of retinopathy of prematurity. The Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Ophthalmology*. 1993 Feb;100(2):230-7.
17. Flynn JT, Bancelari E, Bachynski BN, et al. Retinopathy of prematurity. Diagnosis, severity, and natural history. *Ophthalmology*. 1987 Jun;94(6):620-9.
18. Hammer ME, Mullen PW, Ferguson JG, Pai S, Cosby C, Jackson KL. Logistic analysis of risk factors in acute retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol*. 1986 Jul 15;102(1):1-6.
19. Kinsey VE. Retrolental fibroplasia; cooperative study of retrolental fibroplasia and the use of oxygen. *AMA Arch Ophthalmol*. 1956 Oct;56(4):481-543.
20. Phelps DL, Brown DR, Tung B, et al. 28-day survival rates of 6676 neonates with birth weights of 1250 grams or less. *Pediatrics*. 1991 Jan;87(1):7-17.
21. Robinson J, Fielder AR. Light and the immature visual system. *Eye (Lond)*. 1992;6(Pt 2):166-72.
22. Classification of retrolental fibroplasia. *Am J Ophthalmol*. 1953 Oct;36(10):1333-5.
23. Chiang MF, Quinn GE, Fielder AR, et al. International Classification of Retinopathy of Prematurity, Third Edition. *Ophthalmology*. 2021 Oct;128(10):e51-e68.
24. Skidmore C, Saurey T, Ferre RM, Rodriguez-Brizuela R, Spaulding J, Lundgreen Mason N. A narrative review of common uses of ophthalmic ultrasound in emergency medicine. *J Emerg Med*. 2021 Jan;60(1):80-9.
25. Nathe C, Scoville NM, McKay KM, Rezaei K, Feng S. Performance of a handheld ultrasound device in detecting retinal detachments. *Indian J Ophthalmol*. 2024 Nov 1;72 (Suppl 5):S827-S830.
26. Foos RY. Acute retrolental fibroplasia. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 1975;195(2):87-100.
27. Foos RY. Retinopathy of prematurity. Pathologic correlation of clinical stages. *Retina*. 1987;7(4):260-76.
28. Hartnett ME, Rodier DW, McCollm JR, Thompson HW. Long-term vision results measured with Teller Acuity Cards and a new Light Perception/Projection Scale after management of late stages of retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol*. 2003 Jul;121(7):991-6.
29. Fletcher MC, Brandon S. Myopia of prematurity. *Am J Ophthalmol*. 1955 Oct;40(4):474-81.
30. Graham MV, Gray OP. Refraction of premature babies' eyes. *Br Med J*. 1963 Jun 1;1(5343):1452-4.
31. Johnson L, Quinn GE, Abbasi S, et al. Effect of sustained pharmacologic vitamin E levels on incidence and severity of retinopathy of prematurity: a controlled clinical trial. *J Pediatr*. 1989 May;114(5):827-38.
32. Senthil S, Balijepalli P, Mohamed A, et al. Management outcomes of secondary glaucoma due to retinopathy of prematurity: A 19-year prospective study at a tertiary eye care institute. The Indian Twin Cities ROP Screening (IT-CROPS) database report number 8. *PLoS One*. 2020 Sep 10;15(9):e0238633.
33. Michael AJ, Pesin SR, Katz LJ, Tasman WS. Management of late-onset angle-closure glaucoma associated with retinopathy of prematurity. *Ophthalmology*. 1991 Jul;98(7):1093-8.
34. Lenis TL, Ledesma Vicioso N, Reddy V, Kovacs KD, Van Tassel SH, Orlin A. Case report: Glaucoma in an infant with retinopathy of prematurity. *Front Pediatr*. 2021 Dec 16;9:786327.
35. Gilmour DF. Familial exudative vitreoretinopathy and related retinopathies. *Eye (Lond)*. 2015 Jan;29(1):1-14.
36. Chen SN, Hwang JF, Lin CJ. Clinical characteristics and surgical management of familial exudative vitreoretinopathy-associated rhegmatogenous retinal detachment. *Retina*. 2012 Feb;32(2):220-5.
37. Agarwal K, Jalali S. Classification of retinopathy of prematurity: From then till now. *Community Eye Health*. 2018;31(101):S4-S7.
38. Shah PK, Prabhu V, Ranjan R, Narendran V, Kalpana N. Retinopathy of prematurity: Clinical features, classification, natural history, management and outcome. *Indian Pediatr*. 2016 Nov 7;53 Suppl 2:S118-S122.
39. Shastry BS, Hejtmancik JF, Hiraoka M, et al. Linkage and candidate gene analysis of autosomal-dominant familial exudative vitreoretinopathy. *Clin Genet*. 2000 Oct;58(4):329-32.
40. Pallot C, Soudry Faure A, Charvy C, et al. Screening for retinopathy of prematurity: Insight into optimizing screening. *Ophthalmic Res*. 2018;59(4):228-34.
41. Palmer EA. Optimal timing of examination for acute retrolental fibroplasia. *Ophthalmology*. 1981 Jul;88(7):662-8.
42. American Academy of Pediatrics. Section on Ophthalmology. Screening examination of premature infants for

- retinopathy of prematurity. *Pediatrics*. 2001 Sep;108(3):809–11.
43. Nilsson M, Hellström A, Jacobson L. Retinal sequelae in adults treated with cryotherapy for retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016 Jul 1;57(9):OCT550–5.
 44. Multicenter trial of cryotherapy for retinopathy of prematurity. Three-month outcome. Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Arch Ophthalmol*. 1990 Feb;108(2):195–204.
 45. Khokhar S, Surve A, Verma S, et al. Cataract in retinopathy of prematurity – A review. *Indian J Ophthalmol*. 2022 Feb;70(2):369–77.
 46. Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. The natural ocular outcome of premature birth and retinopathy. Status at 1 year. *Arch Ophthalmol*. 1994 Jul;112(7):903–12.
 47. Chang E, Rao P. Adult retinopathy of prematurity: treatment implications, long-term sequelae, and management. *Curr Opin Ophthalmol*. 2021 Sep 1;32(5):489–93.
 48. Holmström G, Larsson E. Outcome of retinopathy of prematurity. *Clin Perinatol*. 2013 Jun;40(2):311–21.
 49. Good WV. The nine lives of retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol*. 2004 Feb;88(2):160–1.
 50. Downes RA, Rachitskaya AV. Ophthalmic sequelae of prematurity in late childhood and adulthood: A review. *Clin Exp Ophthalmol*. 2024 Apr;52(3):355–64.
 51. Early Treatment For Retinopathy Of Prematurity Cooperative Group. Revised indications for the treatment of retinopathy of prematurity: results of the early treatment for retinopathy of prematurity randomized trial. *Arch Ophthalmol*. 2003 Dec;121(12):1684–94.
 52. Mintz-Hittner HA, Kennedy KA, Chuang AZ; BEAT-ROP Cooperative Group. Efficacy of intravitreal bevacizumab for stage 3+ retinopathy of prematurity. *N Engl J Med*. 2011 Feb 17;364(7):603–15.
 53. Lee A, Shirley M. Ranibizumab: A review in retinopathy of prematurity. *Paediatr Drugs*. 2021 Jan;23(1):111–7.
 54. Shah PK, Narendran V, Kalpana N, Tawansy KA. Anatomical and visual outcome of stages 4 and 5 retinopathy of prematurity. *Eye (Lond)*. 2009 Jan;23(1):176–80.

Adresa za dopisivanje:

Darko Batistić, dr. med., spec. oftalmologije i optometrije, uži spec. za stražnji segment oka
 Klinika za očne bolesti, KBC Split
 Spinčićeva 1, 21000 Split
 e-pošta: batisticdarko@gmail.com

SUMMARY

Retinopathy of prematurity – modern guidelines, diagnosis and treatment

Darko Batistić, Ana Vučinović, Ante Krešo, Boško Jakšić

Retinopathy of prematurity (ROP) is a frequent cause of childhood blindness in developed countries, despite current treatment options, and is also increasingly observed in the developing world. ROP progresses in two phases. The first phase starts with delayed retinal vascular development after birth and partial regression of existing blood vessels, followed by a second phase in which hypoxia leads to pathological vessel proliferation. Two major risk factors for ROP are the use of supplemental oxygen and reduced gestational age. Hyperoxygenation influences ROP through the regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF). High oxygen concentrations suppress VEGF production in the initial stage of ROP, preventing normal blood vessel growth, whereas elevated VEGF levels during the subsequent hypoxic phase stimulate abnormal neovascularization. Insulin-like growth factor I (IGF-1) is considered the most significant oxygen-independent risk factor for ROP. The CRYO ROP and ETROP studies confirm the efficacy of cryotherapy and laser photocoagulation in children with ROP, with laser photocoagulation being the treatment of choice. Surgical intervention is reserved for later stages of the disease but has limited functional outcomes. Because of the risk of complications, children with this condition require prolonged follow-up.

Key words: RETINOPATHY OF PREMATUREITY; LIGHT COAGULATION;
 VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTORS; HYPOXIA; MYOPIA

Komplikacije šećerne bolesti tip 1 na očima

Ana Vučinović, Željana Matutinović Odak, Darko Batistić*

Dijabetes tipa 1 pogađa milijune ljudi diljem svijeta i zahtijeva pažljivo liječenje kako bi se izbjegle ozbiljne dugotrajne komplikacije, uključujući bolesti srca i bubrega, moždani udar i gubitak vida. Skupina bolesnika s dijabetesom tipa 1 vrlo je heterogena, s pojedincima koji imaju bolest u različitim stadijima. Preko 40 % bolesnika koji žive sa šećernom bolesti tip 1 razvije dijabetičku bolest oka. Rano otkrivanje i pravodobno odgovarajuće liječenje mogu smanjiti rizik od sljepoće za više od 95 %.

Ključne riječi: OFTALMOLOGIJA; ŠEĆERNA BOLEST TIP 1; DIJABETIČKA RETINOPATIJA; GLAUKOM, SINDROMI SUHOG OKA

Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (WESDR) pokazala je da nakon 20 godina trajanja šećerne bolesti 99 % pacijenata s tipom 1 i 60 % pacijenata s tipom 2 pokazuje određeni stupanj retinopatije. Osim trajanja bolesti drugi ključni čimbenici rizika za razvoj dijabetičke retinopatije su povišene vrijednosti hemoglobina A1c (HbA1c) i krvnog tlaka (1). Učestalost šećerne bolesti tip 1 globalno raste od 1950-ih, s prosječnim godišnjim povećanjem od 3–4 % u posljednja tri desetljeća (2). Šećerna bolest tip 1 uzrokuje više dobro poznatih mikrovaskularnih komplikacija kao što su dijabetička retinopatija, neuropatija i nefropatija (3). Autonomna neuropatija povezana s dijabetesom može zahvatiti očne strukture uključujući suzne žlijezde, rožnicu i mrežnicu. Rezultati različitih istraživanja otkrivaju da je prevalencija dijabetičke retinopatije u male djece niska (varira od 10 % do 35 %) (2, 3). Rizik od razvoja mikrovaskularnih komplikacija može se povećati tijekom tinejdžerskih godina (4, 5). Otkrivanje ovih mikrovaskularnih komplikacija zahtijeva pažljivo ispitivanje prednjeg i stražnjeg segmenta oka kroz svrhoviti program probira. Godišnji probir počevši od dobi od 10 godina preporučuje se za sve bolesnike sa šećernom bolesti tip 1 (6, 7).

Šećerna bolest tip 1 povezana je s komplikacijama koje uključuju prednji i stražnji segment oka, kao što su suho oko, glaukom, patologija rožnice i dijabetička retinopatija.

U bolesnika sa šećernom bolesti, stvaranje suza može biti oslabljeno autonomnom neuropatijom i oštećenjem mikrovaskulature suzne žlijezde. Suho oko može biti posljedica prekida refleksnih puteva suzenja ili bilo kojeg procesa koji utječe na sposobnost lučenja suzne žlijezde. Dijabetička senzorna neuropatija rožnice također može igrati ulogu u smanjenom lučenju suza (8).

Istraživanja su pokazala značajno niže vrijednosti Schirmerovog testa u dijabetičara nego u djece bez dijabetesa. Neka istraživanja ukazuju na povezanost težine stanja suhog oka s ozbiljnošću dijabetičke retinopatije za koju je dobro poznato da je u korelaciji s kontrolom glikemije (9).

Nasuprot tome, Binder i sur. izvijestili su da su simptomi suhog oka zahvaćali neke pacijente sa šećernom bolesti tip 1 samo tijekom hiperglikemijskih faza. Zaključili su da bi to moglo biti posljedica visoke osmolarnosti izvanstanične tekući-

*Klinika za očne bolesti, Klinički bolnički centar Split

ne koja ometa proizvodnju suza, a ne predstavljati kroničnu komplikaciju šećerne bolesti (10).

Istraživanja su pokazala moguću povezanost šećerne bolesti tipa 1 s povećanom debljinom rožnice i višim intraokularnim tlakom (11, 12). Ovo može biti uzrokovano promjenom biomehaničkih svojstava rožnice povezanih sa šećernom bolesti koja utječu na mjerenje intraokularnog tlaka. Povećana debljina rožnice kod pacijenata sa šećernom bolesti može biti povezana s glikozilacijom proteoglikana i glikozaminoglikana (13). Osim toga, Last i sur. izvijestili su da u šećernoj bolesti dolazi do promjena trabekularne mreže što dovodi do povećanja intraokularnog tlaka (14).

Glavne vrste dijabetičke retinopatije (DR) su ne-proliferativna dijabetička retinopatija (NPDR) i proliferativna dijabetička retinopatija (PDR). Ove dvije kategorije razlikuju se prema prisutnosti (proliferativno) ili odsutnosti (neproliferativno) abnormalnih novih krvnih žila (mrežnica, optički disk ili neovaskularizacija šarenice/kuta).

Prevalencija DR u skupini mladih dijabetičara koji su nadzirani u pedijatrijskim endokrinološkim klinikama iznosi 2,4 %. Ta je prevalencija niska u usporedbi s onom prijavljenom u prethodno objavljenim studijama koja se kretala od 5 do 50 % (15, 16, 17). Prema Maguireu i sur., kod male djece blaga DR može se spontano povući (18). Međutim, manja je vjerojatnost spontanog poboljšanja DR-a kod starije djece i adolescenata (18). Čak i ako većina ranih promjena na mrežnici otkrivenih u djece s dijabetesom ne zahtijeva nikakvu terapiju, važno je dijagnosticirati retinopatiju što je prije moguće kako bi se postigla optimalna kontrola bolesti te spriječio i odgodio daljnji razvoj retinopatije (19). Kod mladih dijabetičara s visokim rizikom, čiji HbA1c prelazi 10 % i čije je trajanje dijabetesa dulje od 10 godina, potrebni su učestali pregledi za probir retinopatije. Dulje trajanje dijabetesa i lošija kontrola glikemije prijavljeni su kao neovisni čimbenici rizika za DR u djece i adolescenata (20).

Rezultati UKPDS studije pokazali su da smanjenje HbA1c od 1 % dovodi do smanjenja rizika za bilo koju krajnju točku povezanu s dijabetesom – 21 % za smrt povezanu s dijabetesom (15 do 27 %, $P < 0,0001$), 14 % za infarkt miokarda (8 do 21 %, $P < 0,0001$) i 37 % za mikrovaskularne komplikacije (33 do 41 %, $P < 0,0001$) (21).

U nedavnim istraživanjima zabilježeno je smanjenje prevalencije dijabetičke retinopatije (22). Ovaj rezultat može biti posljedica napora liječnika uključenih u skrb o mladim dijabetičarima te posljedične bolje glukoregulacije i smanjene glukovarijabilnosti.

LITERATURA

1. Klein R, Knudtson MD, Lee KE, Gangnon R, Klein BE. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy: XXII the twenty-five-year progression of retinopathy in persons with type 1 diabetes. *Ophthalmology*. 2008;115(11):1859–68. doi: 10.1016/j.ophtha.2008.08.023.
2. Kernell A, Dedorsson I, Johansson B, et al. Prevalence of diabetic retinopathy in children and adolescents with IDDM. A population-based multicentre study. *Diabetologia*. 1997;40:307–10. doi: 10.1007/s001250050683.
3. Hong Y, Hassan N, Cheah YK, et al. Management of T1DM in children and adolescents in primary care. *Malays Fam Physician*. 2017;12:18–22.
4. DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. *Lancet*. 2018;391:2449–62. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31320-5.
5. Hainsworth DP, Bebu I, Aiello LP, et al. Risk factors for retinopathy in type 1 diabetes: the DCCT/EDIC study. *Diabetes Care*. 2019;42(5):875–82. doi: 10.2337/dc18-2516.
6. Forga L, Goñi MJ, Ibáñez B, Cambra K, García-Mouriz M, Iriarte A. Influence of age at diagnosis and time-dependent risk factors on the development of diabetic retinopathy in patients with type 1 diabetes. *J Diabetes Res*. 2016;2016:1–7. doi: 10.1155/2016/9898309.
7. Foster NC, Beck RW, Miller KM, et al. State of type 1 diabetes management and outcomes from the T1D exchange in 2016–2018. *Diabetes Technol Ther*. 2019;21(2):66–72. doi: 10.1089/dia.2018.0384.
8. Zhang X, Zhao L, Deng S, Sun X, Wang N. Dry Eye Syndrome in Patients with Diabetes Mellitus: Prevalence, Etiology, and Clinical Characteristics. *J Ophthalmol*. 2016;2016:8201053. doi: 10.1155/2016/8201053.
9. Kuo YK, Shao SC, Lin ET, Pan LY, Yeung L, Sun CC. Tear function in patients with diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:1036002. doi: 10.3389/fendo.2022.1036002.
10. Binder A, Maddison PJ, Skinner P, Kurtz A, Isenberg DA. Sjögren's syndrome: Association with type-1 diabetes mellitus. *Br J Rheumatol*. 1989;28:518–20. doi: 10.1093/rheumatology/28.6.518.
11. Hymowitz MB, Chang D, Feinberg EB, Roy S. Increased intraocular pressure and hyperglycemic level in diabetic patients. *PLoS One*. 2016;11(3):e0151833. doi: 10.1371/journal.pone.0151833.
12. Ramm L, Herber R, Spoerl E, Pillunat LE, Terai N. Intraocular pressure measurements in diabetes mellitus. *Eur J*

- Ophthalmol. 2020;30(6):1432-9. doi: 10.1177/1120672120937354.
13. Zhao H, He Y, Ren YR, Chen BH. Corneal alteration and pathogenesis in diabetes mellitus. *Int J Ophthalmol*. 2019; 12(12):1939-50. doi: 10.18240/ijo.2019.12.12.
 14. Last JA, Pan T, Ding Y, et al. Elastic modulus determination of normal and glaucomatous human trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:2147-52. doi: 10.1167/iovs.10-5785.
 15. Berrabeh S, Elmehraoui O, Benouda S, Assarrar I, Rouf S, Latrech H. Prevalence and risk factors of retinopathy in type 1 diabetes: a cross-sectional study. *Cureus*. 2023; 15(10):e47993. doi: 10.7759/cureus.47993.
 16. Matuszewski W, Baranowska-Jurkun A, Stefanowicz-Rutkowska MM, Modzelewski R, Pieczyński J, Bandurska-Stankiewicz E. Prevalence of diabetic retinopathy in type 1 and type 2 diabetes mellitus patients in North-East Poland. *Medicina (Kaunas)*. 2020;56(4):164. doi: 10.3390/medicina56040164.
 17. Lundeen EA, Burke-Conte Z, Rein DB, et al. Prevalence of diabetic retinopathy in the US in 2021. *JAMA Ophthalmol*. 2023;141(8):747-54. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2023.2965.
 18. Maguire A, Chan A, Cusumano J, et al. The case for biennial retinopathy screening in children and adolescents. *Diabetes Care*. 2005;28:509-13. doi: 10.2337/diacare.28.2.509.
 19. Wysocka-Mincewicz M, Gołębiowska J, Olechowski A, Szalecki M. Diabetic retinopathy in children with type 1 diabetes – occurrence and screening using optical coherence tomography. *Life (Basel)*. 2021 Jun 21;11(6):590. doi: 10.3390/life11060590.
 20. Invernizzi A, Chhablani J, Viola F, Gabrielle PH, Zarranz-Ventura J, Staurenghi G. Diabetic retinopathy in the pediatric population: Pathophysiology, screening, current and future treatments. *Pharmacol Res*. 2023;188:106670. doi: 10.1016/j.phrs.2023.106670.
 21. King P, Peacock I, Donnelly R. The UK prospective diabetes study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes. *Br J Clin Pharmacol*. 1999;48(5):643-8. doi: 10.1046/j.1365-2125.1999.00092.x.
 22. Romero-Aroca P, Fernández-Balart J, Baget-Bernaldiz M, et al. Changes in the diabetic retinopathy epidemiology after 14 years in a population of type 1 and 2 diabetic patients. *J Diabetes Complications*. 2009;23(4):229-38. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2008.02.003.

Adresa za dopisivanje:

dr. sc. **Ana Vučinović**, dr. med. spec. oftalmologije i optometrije, uži spec. za stražnji segment oka
Klinika za očne bolesti
KBC Split, Spinčićeve 1, 21000 Split
e-pošta: ana_vucinovic@yahoo.com

SUMMARY

Ocular complications of type 1 diabetes

Ana Vučinović, Željana Matutinović Odak, Darko Batistić

Type 1 diabetes affects millions of people worldwide and requires careful management to avoid serious long-term complications, including heart and kidney disease, stroke, and vision loss. The group of patients with type 1 diabetes is very heterogeneous, with individuals having the disease at different stages. Over 40 % of patients living with type 1 diabetes develop diabetic eye disease. Early detection and timely appropriate treatment can reduce the risk of blindness by more than 95 %.

Key words: OPHTHALMOLOGY; DIABETES MELLITUS, TYPE 1; DIABETIC RETINOPATHY; GLAUCOMA; DRY EYE SYNDROMES

Opstrukcija suznog puta u dojenčadi

Siniša Skelin, Željana Matutinović Odak, Boško Jakšić*

Opstrukcija suznog puta u dojenčadi je relativno čest poremećaj u pedijatrijskoj populaciji (5-20 %) i pedijatri u primarnoj zdravstvenoj zaštiti se s ovom problematikom često susreću. Najčešće je uzrokovan perzistentnom membranom u donjem dijelu nazolakrimalnog kanala, ali su moguće i opstrukcije na drugim dijelovima suznog puta koje se mogu dijagnosticirati različitim dijagnostičko terapijskim metodama. Posebnost ovog poremećaja je što u kliničkoj slici ima česte konjunktivitise ili stanja slična konjunktivitisu što uzrokuje učestaliju i nepotrebnu upotrebu antibiotika.

Normalan protok suza se najčešće uspostavi konzervativnim liječenjem u većine bolesnika do kraja prve godine života, ali je potrebno obučiti roditelje pravilnoj masaži suzne vrećice. Time pomažemo ranijem uspostavljanju protoka suza, smanjujemo rizik od infekcije i izbjegavamo kasniju opću anesteziju te moguće komplikacije operativnog zahvata.

Sondiranje se pokazalo kao uspješna invazivna metoda do treće godine života ukoliko konzervativno liječenje ne uspije.

Ključne riječi: OPSTRUKCIJA SUZNOG KANALA; SUZNI KANAL; DOJENČE

UVOD

Kongenitalna opstrukcija nazolakrimalnog kanala (CNLDO, engl. *congenital nasolacrimal duct obstruction*) predstavlja kasno sazrijevanje suznog puta na mjestu ulijevanja suza u nos. Simptomi vezani uz taj problem razlog su čestog posjeta djece dojenačke dobi pedijatrijskim i oftalmološkim ordinacijama.

Uzrok je perzistentni “neperforirani” nabor sluznice nosa, valvula Hasneri, kroz koji suze inače normalno otječu iz suzne vrećice u nos. Posljedica je suzno oko od navršenih nekoliko tjedana života. Obično je jednostrana, ali može biti obostrana.

ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA

Suzni sistem se sastoji od sekretornog, protektivnog (suze) i odvodnog dijela.

Sekretorni dio čine suzna žlijezda i pomoćne suzne žlijezde u spojnici koje s Meibomovim žlijezdama stvaraju komponente suznog filma. Funkcija suz-

nog filma je da pruža vlažnost, optička svojstva i zaštitu površine oka od infekcije, prašine i sušenja.

Odvodni dio počinje s gornjim i donjim punktuom koji su ulazni dijelovi u suzne kanaliće u nazalnom dijelu gornje i donje vjeđe, dužine oko 10 mm, koji nakon 1 mm vertikalnog smjera zavijaju nazalno i pojedinačno ili se zajednički spajaju i ulijevaju u gornji dio suzne vrećice. Na ulazu se nalazi Rosemullerova valvula koja sprječava povratak suza iz suzne vrećice. Suzna vrećica je smještena u koštanom udubljenju i iz nje u njenom donjem dijelu izlazi nazolakrimalni kanal u donji nosni hodnik nosne šupljine. Kanal je u gornjem dijelu okružen kosti, a u donjem sluznicom nosa. Na ulasku u nos nalazi se nabor sluznice (valvula Hasneri) čiji je zadatak spriječiti retrogradno vraćanje sadržaja iz nosa.

Spajanje suzne vrećice s nosnom šupljinom se događa oko termina poroda ili malo poslije.

*Klinika za očne bolesti, KBC Split, Spinčićeva 1, 21000 Split

Mišić zadužen za treptanje je m.orbicularis oculi čija vlakna su u strukturi vjeđa i jedni djelom se hvataju za stijenku suzne vrećice. U početnoj fazi treptaja kontrakcijom mišića suzni kanalići se skraćuju, a potezanjem lateralne stijenke suzne vrećice u njoj se inducira negativni tlak koji usisava suze. U kasnijoj fazi kontrakcije suzna vrećica se pritišće i suze se istiskuju kroz kanal u nosnu šupljinu. Valvule omogućavaju isključivo jednosmjerno kretanje suza. Proces se ponavlja sa svakim treptajem.

ETIOLOGIJA

Najčešće anomalije koje uzrokuju smetnje protoku suza mogu biti suženja (stenoze), atrezije ili potpuna ageneza nekog dijela suznog puta. Najčešće se ipak radi o opstrukciji u završnom dijelu gdje se nazolakrimalni kanal ulijeva u nos (1).

Oko 20 % dojenčadi ima simptome opstrukcije nazolakrimalnog kanala koji se u većine spontano riješe u prvim mjesecima života (2).

KLINIČKA SLIKA

U kliničkoj slici koja dominira suzno oko s bistrim vodenastim sekretom, češće jednostrano, ali može i obostrano te mirnim prednjim dijelom oka bez znakova upalnog zbivanja. Zbog težeg ispiranja sekreta i bakterija mogu se javljati češći konjunktivitisi koji kompliciraju tijek bolesti. Koža vjeđa također može postati podražena zbog stalnog vlaženja (3).

Prirodni tijek bolesti je takav da se do 12. mjeseca života bez ikakve intervencije spontano uspostavi prohodnost u oko 80 % djece s CNLDO (4).

DIJAGNOSTIKA

U svakog djeteta kod kojeg sumnjamo na CNLDO poželjno je uraditi jednostavne ambulantne testove kojima možemo potvrditi ili odagnati sumnju na opstrukciju protoka suza.

Test nestajanja fluoresceina je jednostavan test kod kojeg u spojničku vreću ukapamo 1 % fluorescein i pod plavim svijetlom promatramo hoće li boja nestati iz suznog filma nakon dvije i pet minuta. Normalno fluorescein nestane nakon 5 minuta, u djece s opstrukcijom se zadržava i nakon tog vremena (5).

Jones test 1 je sličan prethodnome samo se u nos stavlja manji komad vate i promatramo hoće li biti obojen žuto. Ako se vata boja u žuto onda je test pozitivan i suzni kanali su prohodni, a ako nema boje na vati, onda je u pitanju opstrukcija u nekom dijelu suznog puta.

LIJEČENJE

Zbog visoke stope samoizlječenja, do kraja prve godine života se ne preporuča kirurško liječenje, već se terapija svodi na konzervativni pristup.

Konzervativno liječenje

1. Masaža suzne vrećice

Ovom metodom pritiska prstom izvana na suznu vrećicu povećavamo hidrostatski tlak unutar vrećice ispunjene sadržajem i potičemo pražnjenje u nos. Rezultati studija pokazuju da se na takav način može riješiti i preko 50 % slučajeva (6). To stavlja ovu metodu na prvo mjesto terapije CNLDO u prvih 12 mjeseci.

2. Upotreba antibiotika

Sama upotreba antibiotika neće riješiti pitanje začepljenog kanala i treba ih upotrebljavati racionalno isključivo u slučajevima konjunktivitisa sa znakovima infekcije i kad upala u suznoj vrećici prijeti proširenju na okolne strukture.

Kirurško liječenje

Kirurško liječenje se obavlja nakon 12. mjeseca života i preferira se zahvat u općoj anesteziji da se ne bi ozlijedili delikatni suzni putevi prilikom manipulacije kao i zbog samog stresa za dijete. Kod kirurških postupaka uspješnost je veća ukoliko se izvode u dobi od 12 mjeseci nego s 2 ili 3 godine i zato što jednostavnije opstrukcije imaju tendenciju spontanog izlječenja u toj dobi, a složeniji anatomske defekti zahtijevaju ponekad i nekoliko zahvata.

1. Proštrcavanje suznih kanala pod tlakom

Ovo je dijagnostička i terapijska metoda istovremeno. Kod nje uštrcavajući fluoresceinom obojenu tekućinu kroz suzne kanaliće i stvarajući pozitivni pritisak u suznoj vrećici, kao kod masaže, možemo riješiti manje opstrukcije suznog kanala. Ako se tekućina vraća i ne prolazi u nos, možemo dijagnosticirati na kojem mjestu se opstrukcija nalazi. U literaturi se spominje uspješnost od

samo jednog zahvata 33 % do 100 % (7). Ukoliko ne dobijemo prolaz tekućine u nos u istom aktu se nastavlja sondiranjem suznih kanala.

2. Sondiranje

Sondiranje suznih kanala je slijepa procedura kod koje ulazimo sondom (kanilom) kroz suzne kanaliće i identificiramo, prema otporu kojeg osjećamo na sondi i kretanju tekućine, mjesto gdje nailazimo na opstrukciju. Bitno je pri tome ne nanijeti jatrogeno oštećenje suznih puteva koje spada u komplikaciju ovog zahvata.

Svaki punktum se na početku proširi dilatatorom te se nakon toga ulazi sondom prvo vertikalno 1 mm potom nazalno do ulaska u suznu vrećicu. Smjer sonde se usmjerava tada prema dolje, prateći anatomske smjer nazolakrimalnog kanala i ulazi u nosnu šupljinu u donju nosnu školjku. Ovim putem se mogu riješiti jednostavnija suženja i membrane koje prave smetnje protoka.

Koristeći aspirator u nosnoj šupljini možemo potvrditi ulazak obojene tekućine u nos, a isto tako možemo i vizualizirati mjesto ulaska fiberendoskopom kroz nos. Endoskopska metoda u suradnji sa specijalistima ORL nudi direktnu vizualizaciju i mogućnost rješavanja koštanih defekata te veću uspješnost zahvata (8).

Uspješnost ove metode, ukoliko se izvodi ranije sa šest do devet mjeseci života, u usporedbi s kasnijom iza 12 mjeseci je slična i iznosi 75-80 % (9).

Ako sondiranje nije bilo uspješno simptomi suženja se javljaju unutar šest tjedana nakon zahvata i zahvat se može ponoviti. U studijama se navodi uspješnost takvog ponovljenog zahvata 56 % u 6-mjesečnom praćenju (10).

Moguće komplikacije su krvarenje, oštećenje nazolakrimalnog sistema i susjednih struktura, upale i fibroze (11).

3. Nazolakrimalna intubacija

Invazivna tehnika koja se koristi za slučajeve perzistentne CNLDO. Sastoji se u umetanju silikonskih cjevčica, jedne ili dvije odvojene, koje se fiksiraju na suznim punktumima i pružaju do nosne šupljine. Ostavlja ih se na mjestu u periodu od tri do šest mjeseci. Nekad se u rukama iskusnog kirurga izvodi kao metoda prvog izbora naročito u starije djece. Većina studija je pokazala uspješnost ove metode 62 do 100 % (12), stoga treba biti razmotrena nakon neuspjelog sondiranja. Unatoč

dobrim rezultatima zabilježena je visoka (41 %) stopa prijevremenog uklanjanja cjevčice (13).

Komplikacije su prijevremeno vađenje cjevčica, oštećenje punktuma, abrazije rožnice i spojnice.

4. Dilatacija nazolakrimalnog kanala balon kate- terom

Ovo je novija metoda kojom se širi nazolakrimalni kanal s pomoću balona pod tlakom i povezana je s manjim komplikacijama nego sondiranje. Rezultatima je slična intubaciji silikonskih cjevčica (14), ali je metoda koja zahtjeva skupu opremu i uvježbani tim.

5. Dakriocistorinostomija

Opsežan kirurški zahvat kojim se uspostavlja komunikacija spojničke vreće i nosne šupljine kroz koštane strukture nosa. Koristimo ga kao zadnju opciju kod refrakternih slučajeva (15).

ZAKLJUČAK

CNLDO je relativno čest poremećaj u pedijatrijskoj populaciji (5-20 %) i najčešće je uzrokovan perzistentnom membranom u donjem dijelu nazolakrimalnog kanala.

Opstrukcija se uglavnom riješi konzervativnim liječenjem u većine pacijenata, ali je potrebno obučiti roditelje pravilnoj masaži suzne vrećice dva do četiri puta dnevno. Time pomažemo ranijem uspostavljanju protoka suza, smanjujemo rizik od infekcije i izbjegavamo kasniju opću anesteziju kao i moguće komplikacije operativnog zahvata. Također, smanjujemo neracionalnu i prečestu upotrebu antibiotika.

Sondiranje se pokazalo kao uspješna invazivna metoda do treće godine života ukoliko ranije konzervativno liječenje ne uspije.

LITERATURA

- MacEwen CJ, Young JD. Epiphora during the first year of life. *Eye* (Lond). 1991;5:596-600. doi: 10.1038/eye.1991.103.
- Petersen RA, Robb RM. The natural course of congenital obstruction of the nasolacrimal duct. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 1978;15:246-50. doi: 10.3928/0191-3913-19780701-14.
- Olitsky SE. Update on congenital nasolacrimal duct obstruction. *Int Ophthalmol Clin*. 2014;54:1-7. doi: 10.1097/IIO.000000000000030.
- Saraniya S, Ryan F, Brian GM. Spontaneous resolution and timing of intervention in congenital nasolacrimal duct ob-

- struction. JAMA Ophthalmol. 2018;136(11):1281–6. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2018.3841.
5. MacEwen CJ, Young JD. The fluorescein disappearance test (FDT): an evaluation of use in infants. J Pediatr Ophthalmol Strabismus. 1991;28:302–5.
6. Stolovitch CM. Hydrostatic pressure as an office procedure for congenital nasolacrimal duct obstruction. J AAPOS. 2006;10:269–72. doi: 10.1016/j.jaapos.2006.02.009.
7. Lee KA, Chandler D, Repka MX, et al. A randomized trial comparing the cost-effectiveness of two approaches for treating unilateral nasolacrimal duct obstruction. Arch Ophthalmol. 2012;130:1525–33. doi: 10.1001/archophthalmol.2012.2853.
8. Orhan M, Cal P, Onerci M, Irkeç M. Conventional or endoscopic probing for congenital nasolacrimal duct obstruction. Eur J Ophthalmol. 2001;11:215–7. doi: 10.1177/112067210101100301.
9. Young JD, MacEwen CJ, Ogston SA. Congenital nasolacrimal duct obstruction in the second year of life: a multicenter trial of management. Eye (Lond). 1996;10:485–91. doi: 10.1038/eye.1996.107.
10. Repka MX, Chandler DL, Bremer DL, Collins ML, Lee DH. Repeat probing for treatment of persistent nasolacrimal duct obstruction. J AAPOS. 2009;13:306–7. doi: 10.1016/j.jaapos.2009.02.008.
11. Petris C, Liu D. Probing for congenital nasolacrimal duct obstruction. Cochrane Database Syst Rev. 2017;7:CD011109. doi: 10.1002/14651858.CD011109.pub2.
12. Lim CS, Martin F, Beckenham T, Cumming RG. Nasolacrimal duct obstruction in children: outcome of intubation. J AAPOS. 2004;8:466–72. doi: 10.1016/j.jaapos.2004.06.013.
13. Repka MX, Melia BM, Beck RW, Atkinson CS, Chandler DL, Holmes JM. Primary treatment of nasolacrimal duct obstruction with nasolacrimal duct intubation in children younger than four years of age. J AAPOS. 2008;12:445–50. doi: 10.1016/j.jaapos.2008.03.005.
14. Repka MX, Chandler DL, Holmes JM, Hoover DL, Morse CL, Schloff S, Silbert DI, Tien DR; Pediatric Eye Investigator Group. Balloon catheter dilation and nasolacrimal duct intubation for treatment of nasolacrimal duct obstruction after failed probing. Arch Ophthalmol. 2009;127:633–9. doi: 10.1001/archophthalmol.2009.66.
15. Struck HG, Weidlich R. Indication and prognosis of dacryocystorhinostomy in childhood: a clinical study 1970–2000. Ophthalmologe. 2001;98:560–3. doi: 10.1007/s003470170119.
16. Čupak K, et al. Oftalmologija: Suzni uređaj. Zagreb: Nakladni zavod Globus; 2004. p. 347–60.

Adresa za dopisivanje:

Siniša Skelin, dr. med.
Klinika za očne bolesti
Klinički bolnički centar Split
Spinčićeva 1, 21000 Split
E-mail: skelast@yahoo.com

SUMMARY

Tear duct obstruction in infants

Siniša Skelin, Željana Matutinović Odak, Boško Jakšić

Obstruction of the tear duct in infants is a relatively common disorder in the pediatric population (5–20 %), and pediatricians in primary health care often encounter this problem. It is most often caused by a persistent membrane in the lower part of the nasolacrimal duct, but obstructions in other parts of the tear duct are also possible. They can be diagnosed by different diagnostic and therapeutic methods. The peculiarity of this disorder is frequent conjunctivitis or conditions similar to conjunctivitis, which usually result in unnecessary antibiotic treatment.

Normal tear flow is most often established with conservative treatment in most patients by the end of the first year of life, but it is necessary to train the parents in proper massage technique of the lacrimal sac. In this way, we help establish tear flow earlier, reduce the risk of infection, and avoid later general anesthesia and possible surgical complications.

Probing proved to be a successful invasive method up to the 3rd year of life if conservative treatment fails.

Key words: LACRIMAL DUCT OBSTRUCTION; NASOLACRIMAL DUCT; INFANT

Kratkovidnost u djece - dijagnostika i metode korekcije

Željana Matutinović Odak, Ana Vučinović*

Kratkovidnost je danas najčešći uzrok oštećenja vida u svijetu. S više od 80 milijuna kratkovidne djece diljem svijeta postaje značajan socioekonomski i javnozdravstveni problem. Visoka kratkovidnost povezana je s komplikacijama kao što su glaukom, ablacija mrežnice i makularna degeneracija. Provođe se mnoga istraživanja da bi se utvrdili etiološki i ostali čimbenici rizika, metode rane dijagnostike te načini sprječavanja nastanka i progresije kratkovidnosti.

Ključne riječi: OFTALMOLOGIJA; MIOPIJA; DIJETE; ČIMBENICI RIZIKA; RANA DIJAGNOZA

DEFINICIJA

Miopija (kratkovidnost) je očni poremećaj kod kojeg je optička snaga oka prejak za odgovarajuću aksijalnu duljinu. Svjetlosne zrake od objekta u beskonačnosti koje ulaze u neprilagođeno kratkovidno oko konvergiraju prejako i fokusiraju se ispred mrežnice (1, 2).

KLASIFIKACIJA

Više je načina podjele kratkovidnosti. Najčešće se koristi podjela na nepatološku i patološku kratkovidnost. Obje skupine imaju različite kliničke značajke i prognoze. Nepatološka kratkovidnost također se obično naziva fiziološka, jednostavna ili školska kratkovidnost. Kod nepatološke kratkovidnosti refraktivne strukture oka razvijaju se u normalnim granicama, međutim snaga refrakcije oka nije u korelaciji s aksijalnom duljinom. Stupanj nepatološke kratkovidnosti obično je minimalan do umjeren (< 6,00 dioptrija), a obično počinje tijekom djetinjstva ili adolescencije (3). Progresija kratkovidnosti se nastavlja tijekom razdoblja rasta adolescenta i usporava ili postaje stabilna rano u drugom desetljeću. Rjeđe se drugi kratkovidni pomak može dogoditi krajem drugog ili početkom trećeg desetljeća života (4).

Patološka kratkovidnost se klasificira kao visoka kratkovidna refrakcijska greška koja je progresiv-

na i javlja se vrlo rano u djetinjstvu. Patološka kratkovidnost obično se definira kao sferni ekvivalent > 6,00 dioptrija ili aksijalna duljina oka > 26,5 mm (5). Pacijenti s visokom aksijalnom kratkovidnošću izloženi su većem riziku od razvoja progresivne degeneracije mrežnice i drugih stanja koja ugrožavaju vid.

ETIOLOGIJA

Kratkovidnost je složena bolest s višestrukom etiologijom. Pokazalo se da čimbenici okoliša i genetski čimbenici pridonose razvoju kratkovidnosti. Međutim nije jasno djeluju li ti čimbenici neovisno ili postoji neki oblik interakcije. Rad Tkatchenko i sur. pomogao je približiti gledišta vezana uz etiologiju kratkovidnosti, gena nasuprot okolišnih čimbenika. Ovi su autori proučavali interakciju između dobi, vremena provedenog u radu na blizu i genetske varijacije na lokusu gena APLP2. Utvrđeno je da su djeca koja su provodila veću količinu vremena čitajući i koja su imala kratkovidnu verziju gena APLP2, imala 5 puta veću vjerojatnost da će razviti kratkovidnost u usporedbi s onom djecom koja su provodila manju količinu vremena čitajući. Naprotiv, djeca koja su nosila normalnu verziju APLP2 gena nisu razvila kratko-

*Klinika za očne bolesti, Klinički bolnički centar Split

vidnost čak i ako su bila izložena duljem vremenu čitanja. Kako bi potvrdili otkrića, proučavali su razvoj oka u APLP2 nokaut miševa i pronašli su sličnu interakciju između APLP2 gena i vizualnog iskustva kod miševa. Ova je studija po prvi put pokazala interakciju gena i čimbenika okoliša u razvoju kratkovidnosti i sugerirala da genetska pozadina pojedinca određuje utjecaj okolišnih čimbenika na razvoj refrakcije oka (6).

EPIDEMIOLOGIJA

Prevalencija kratkovidnosti uvelike varira unutar populacije i različitih etničkih skupina. Stopa prevalencije kratkovidnosti u Sjedinjenim Američkim Državama je 20-50 %, a u nekim dijelovima Azije čak 80 - 90 %. Smatra se da diljem svijeta postoji više od 80 milijuna kratkovidne djece. Većina kratkovidne populacije prvenstveno se sastoji od bolesnika s nepatološkom kratkovidnošću; približno 66 % bolesnika ima dioptriju manju od 2 (D) minusa, a 95 % bolesnika s kratkovidnošću ima manje od 6 dioptrija (7). U 2003. godini multicentrično istraživanje u SAD-u izvijestilo je o značajno različitim stopama prevalencije među djecom četiriju različitih etničkih skupina. Najviše stope zabilježene su među azijskom djecom s prevalencijom od 18,5 % i latinoameričkom djecom s 13,2 % (8). Točne podatke za Hrvatsku nažalost još uvijek nemamo.

ČIMBENICI RIZIKA

Genetski čimbenici

Brojne studije pokazale su višu stopu kratkovidnosti kod djece kojima je jedan od roditelja kratkovidan i još veći rizik za djecu s oba kratkovidna roditelja (9). Analizom je otkriveno 25 genskih lokusa za kratkovidnost, a analizirano je više gena kandidata unutar intervala povezivanja. Među tim lokusima 22 su lokusa na autosomnim kromosomima, a ostala 3 su na X-kromosomu. Ti se lokusi također mogu pronaći u bazi podataka o Mendelskom nasljeđivanju kod čovjeka (Online Mendelian Inheritance in Man - OMIM).

Čimbenici okoliša

Okolinski čimbenici, uključujući rad na blizu, uvjete života, boravak na otvorenom, stupanj obrazovanja, urbanizaciju i prehranu, istraživani su zbog

njihove uloge u nastanku i progresiji kratkovidnosti. Važno je za istaknuti da je stupanj obrazovanja glavni čimbenik rizika povezan s porastom prevalencije kratkovidnosti (10). Nekoliko je studija otkrilo da kraća udaljenost (<30 cm) i dulje vrijeme provedeno (>30 min) u radu na blizu povećavaju rizik od kratkovidnosti (11). U međuvremenu se pokazalo da je povećana aktivnost na otvorenom (>40 min/dan) ključni čimbenik u smanjenju nastanka i progresije kratkovidnosti (12).

DIJAGNOZA

Djeca s fiziološkom kratkovidnosti obično se žale na zamućen vid na daljinu. Roditelji također mogu primijetiti da njihovo dijete žmiri dok gleda udaljene predmete. Ako je stupanj kratkovidnosti umjeren ili visok, djeca se približavaju televiziji i računalu ili drže materijal za čitanje bliže. Kratkovidnost se kod djece može otkriti različitim postupcima provjere vida. Iako se tehnikama pregleda dioptrije poput autorefrakcije može otkriti kratkovidnost, ista se točno može kvantificirati samo korištenjem manifestne ili cikloplegične refrakcije. Cikloplegična refrakcija je zlatni standard za dijagnosticiranje bilo koje refrakcijske greške u djeteta. Djeca imaju snažnu moć akomodacije prilikom autorefrakcije, zbog čega se njihova refrakcijska greška čini kratkovidnijom. Cikloplegična refrakcija je stoga neophodna kako bi se odredio najtočniji stupanj dioptrije i kako bi se izbjeglo propisivanje "većeg minusa" kod djece.

Postupak cikloplegične refrakcije

Cikloplegija je postupak paraliziranja mišića oka koji kontroliraju akomodaciju i uzrokuje gubitak sposobnosti fokusiranja. S obzirom na to da je akomodacija oka postupak kontroliran parasimpatikusom, za cikloplegičnu refrakciju se koriste antimuskarinski lijekovi u obliku kapi za oči. Najčešće korišteni lijekovi su ciklopentolat, tropikamid i atropin. U svijetu se najčešće koristi ciklopentolat zbog toga što se njegov maksimalni učinak može postići već za 30 minuta, a neugodne nuspojave su rijetke. Tropikamid je drugi lijek izbora, kapa se u oko tri puta u razmaku od 15 minuta. Neki autori tvrde da oba lijeka proizvode tzv. rezidualnu akomodaciju i mogu dati nepotpuno točne rezultate cikloplegične refrakcije. Atropin se koristi u nekim slučajevima visoke hipermetro-

pije i kada je potrebna maksimalna cikloplegija prije kirurške intervencije kod strabizma, posebice ezotropije. Zbog mnogih nuspojava potreban je poseban oprez kod korištenja atropinskih kapi za oči.

Pregled pozadine oka

Patologija koja se može povezati s visokom kratkovidnošću dijagnosticira se pregledom pozadine oka u midrijazi. Pregledom pozadine oka mogu se otkriti različite patološke promjene na stražnjem polu uključujući: Fuchove pjege (pigmentirane kružne lezije koje nastaju zbog sekundarne subretinalne neovaskularizacije i krvarenja), eksudate, stražnji stafinom, pukotine mrežnice, rupture i ablaciju mrežnice. Optički diskovi mogu izgledati ravni ili nagnuti. Staklovina također može biti zahvaćena zamućenjem, likvifikacijom i odvajanjem. Katarakta i glaukom otvorenog kuta također su čimbenici rizika za visoku kratkovidnost (7).

METODE KOREKCIJE

Korekcija naočalama

Najčešće korištena metoda korekcije kratkovidnosti je konkavnim monofokalnim naočalnim lećama. Osim monofokalnih naočalnih leća koriste se i bifokalne te multifokalne naočalne leće. Studija ispitivanja korekcije kratkovidnosti (COMET studija) proučavala je učinke progresivnih leća (engl. *Progressive additional lenses* - PVLs) i jednokakosnih leća (engl. *Single vision lenses* - SVLs) u 469 djece s kratkovidnošću tijekom 2003. Njihovi preliminarni podaci pokazali su usporavanje progresije kratkovidnosti tijekom prve godine PVL-a u usporedbi sa SVL-om (13).

Korekcija kontaktnim lećama

Nakon što su djeca dovoljno zrela da se nose s odgovornošću, kontaktne leće mogu biti opcija. Većina oftalmologa se slaže da bi pacijenti trebali biti u predtinejdžerskim ili ranim tinejdžerskim godinama prije nego što počnu koristiti kontaktne leće, međutim odluka se donosi za svakog pacijenta na temelju njegove razine zrelosti.

Kirurško liječenje

Refraktivna kirurgija koristi lasere za ponovno oblikovanje rožnice i pokušava proizvesti emetro-

pno oko. Ako je operacija uspješna, pacijent će imati izvrsnu vidnu oštrinu bez naočala ili kontaktnih leća. Fotorefraktivna keratektomija (PRK) i LASIK (engl. *Laser assisted in situ keratomileusis*) najčešće su rađene refraktivne operacije. Intraokularne refraktivne operacije sve su uobičajenije. Najčešće korištene metode su ugradnja fakične intraokularne leće i metoda uklanjanja nezamućene prirodne očne leće (tzv. engl. *Clear lens extraction*) (14).

PREVENCIJA I SPRJEČAVANJE PROGRESIJE KRATKVIDNOSTI

S obzirom na "epidemiju" kratkovidnosti u svijetu, kontrola progresije kratkovidnosti je glavni zadatak znanstvenika diljem svijeta. Trenutačno ne postoje usuglašene smjernice o prevenciji i zastavljanju progresije kratkovidnosti, ali mnoge metode pokazuju potencijal.

Boravak na otvorenom

Pozitivan učinak aktivnosti na otvorenom za smanjenje progresije miopije dokumentiran je u brojnim studijama. Tjelesna aktivnost, sport i niski akomodacijski zahtjevi se smatraju temeljem ovog zaštitnog učinka. Studija o kratkovidnosti u Sydneyu iz 2008. pokazala je značajno smanjenje prevalencije kratkovidnosti kod djece koja su više vremena provodila vani (15).

Bifokalne leće, progresivne leće, asferične leće i multifokalne kontaktne leće

Studija Chenga i sur. iz 2010. je proučavala učinke bifokalnih i prizmatičnih bifokalnih naočala na progresiju kratkovidnosti kod kinesko-kanadske djece. Autori su pokazali veće smanjenje miopske progresije i aksijalne elongacije oka nakon dvije godine za djecu koja su koristila bifokalne i prizmatične bifokalne naočale u usporedbi sa skupinom koja je koristila SVL (16). Nažalost, studija nije pružila podatke o dugoročnom praćenju. Naočalne leće s asferičnim lećama obećavajući su novi put za kontrolu kratkovidnosti. Nakon dvije godine, skupina pacijenata koja je koristila visoko asferične leće (engl. *Highly aspheric lens* - HAL) doživjela je pomak od -0,66 D, dok je skupina s jednokakosnim lećama (SVL) doživjela -1,46 D (17).

Godine 2019. FDA je odobrila prvu kontaktnu leću za usporavanje napredovanja kratkovidnosti, Mi-Sight. MiSight jednodnevne kontaktne leće imaju središnju zonu koja korigira daljinu i koncentrične periferne zone koje izmjenjuju kratkovidni defokus s korekcijom udaljenosti, a pokazalo se da usporavaju stopu progresije kratkovidnosti za 59 % i aksijalno produljenje oka za 52 % tijekom tri godine u randomiziranom ispitivanju (18). Slično tome, pokazalo se da mjesečne kontaktne leće Biofinity Multifocal D s velikom dodatnom snagom (+2,50 D) značajno usporavaju stopu progresije miopije (za 45 %) tijekom tri godine (19). Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se razumjela klinička važnost ovih uočenih razlika.

Atropin

Akomodacija se može inhibirati korištenjem kapi za oči koje sadrže antagoniste muskarinskih receptora. Atropin i pirenzepin bili su u središtu studija koje su istraživale farmakološku prevenciju miopijske progresije. Važno je spomenuti ATOM 1, 2 i 3 studije koje su proučavale može li atropin u različitim koncentracijama usporiti progresiju kratkovidnosti u kratkovidne azijske djece te ima li razlike u progresiji kratkovidnosti nakon ukidanja atropina. Zaključak je da atropin može ograničiti napredovanje niske/umjerene miopije u djece, ali nakon prestanka liječenja postoji tzv. rebound fenomen (20).

Ortokeratologija

Vrlo kontroverzan način za usporavanje miopijske progresije je korištenje noćnih tvrdih kontaktnih leća (ortokeratologija). Ove leće privremeno mijenjaju stanje loma oka primjenom pritiska na rožnicu, stvarajući nefiziološki oblik. Postoji potencijalna opasnost po vid i razorni rizici povezani s noćnim nošenjem kontaktnih leća, a objavljena su i brojna izvješća o infekcijama rožnice i ožiljcima (21).

ZAKLJUČAK

Kratkovidnost (miopija) pogađa sve populacije i poprima razmjere epidemije u svijetu. Kratkovidnost je uzrokovana okolišnim i genetskim čimbenicima rizika te njihovom kombinacijom. Dostupan je niz strategija upravljanja i kontrole miopije koji mogu liječiti ovo stanje. Međutim potrebni su dodatni naponi za razvoj strategije javnog zdrav-

stva usmjerene na rano otkrivanje i prevenciju u kombinaciji s dodatnim učinkovitim terapijskim intervencijama za ograničavanje napredovanja miopije.

LITERATURA

1. Myopia - EyeWiki [Internet]. [cited 2025 Jan 12]. Available from: <https://eyewiki.org/Myopia>
2. American Academy of Ophthalmology. Basic and clinical science course. Optics, refraction and contact lenses. Section 3. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2003.
3. Friedman NJ, Kaiser PK. Essentials of Ophthalmology. Philadelphia, PA: Elsevier Inc.; 2007:253-4.
4. Wright KW, Spiegel P. Pediatric Ophthalmology and Strabismus. New York, NY: Springer; 2003:644-53.
5. Morgan I, Rose K. How genetic is school myopia? Prog Retin Eye Res. 2005;24:1-38.
6. Tkatchenko AV, Tkatchenko TV, Guggenheim JA, et al. APLP2 regulates refractive error and myopia development in mice and humans. PLoS Genet. 2015;11:e1005432.
7. Tomiyama E. Myopia: An epidemic of global proportions. Optometry Times. 2024;16(3).
8. Kleinstein RN, Jones LA, Hullett S, et al. Refractive error and ethnicity in children. Arch Ophthalmol. 2003;121:1141-7.
9. Konstantopoulos A, Yadegarfar G, Elgohary M. Near work, education, family history, and myopia in Greek conscripts. Eye. 2008;22:542-6.
10. Morgan IG, French AN, Ashby RS, et al. The epidemics of myopia: aetiology and prevention. Prog Retin Eye Res. 2018;62:134-49.
11. Huang HM, Chang DST, Wu PC. The association between near work activities and myopia in children: a systematic review and meta-analysis. PLoS ONE. 2015;10(10):e0140419. doi: 10.1371/journal.pone.0140419.
12. Xiong S, Sankaridurg P, Naduvilath T, et al. Time spent in outdoor activities in relation to myopia prevention and control: a meta-analysis and systematic review. Acta Ophthalmol. 2017;95(6):551-66. doi: 10.1111/aos.13375.
13. Gwiazda J, Hyman L, Hussein M, et al. A randomized clinical trial of progressive addition lenses versus single vision lenses on the progression of myopia in children. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003;44(4):1492-500. doi: 10.1167/iovs.02-0677.
14. Huang D, Schallhorn SC, Sugar A, Farjo AA, Majmudar PA, Trattler WB, Tanzer DJ. Phakic intraocular lens implantation for the correction of myopia: a report by the American Academy of Ophthalmology. Ophthalmology. 2009;116(11):2244-58. doi: 10.1016/j.ophtha.2009.03.019.
15. Rose KR, Morgan IG, Ip J, et al. Outdoor activity reduces the prevalence of myopia in children. Ophthalmology. 2008;115(8):1279-85. doi: 10.1016/j.ophtha.2007.11.027.

16. Cheng D, Schmid KL, Woo GC, Drobe B. Randomized trial of the effect of bifocal and prismatic bifocal spectacles on myopic progression: two-year results. *Arch Ophthalmol*. 2010;128(1):12-9. doi: 10.1001/archophthalmol.2009.301.
17. Bao J, Huang Y, Li X, et al. Spectacle lenses with aspherical lenslets for myopia control vs single-vision spectacle lenses: a randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol*. 2022; 140(5):472-8. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2022.0501.
18. Chamberlain P, Peixoto-de-Matos SC, Logan NS, Ngo C, Jones D, Young G. A 3-year randomized clinical trial of MiSight lenses for myopia control. *Optom Vis Sci*. 2019; 96(8):556-7. doi: 10.1097/OPX.0000000000001407.
19. Walline JJ, Walker MK, Mutti DO, et al. The BLINK Study Group. Effect of high add power, medium add power, or single-vision contact lenses on myopia progression in children: The BLINK Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020; 324(6):571-80. doi: 10.1001/jama.2020.9682.
20. Pineles SL, Kraker RT, VanderVeen DK, et al. Atropine for the prevention of myopia progression in children: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology*. 2017;124(12):1857-66. doi: 10.1016/j.ophtha.2017.07.032.
21. VanderVeen DK, Kraker RT, Pineles SL, et al. Use of orthokeratology for the prevention of myopic progression in children. *Ophthalmology*. 2019;126(5):623-36. doi: 10.1016/j.ophtha.2018.12.014.

Adresa za dopisivanje:

Željana Matutinović Odak, dr. med.
Klinika za očne bolesti
KBC Split, Spinčićeve 1, 21000 Split
e-pošta: zeljanamatutinovic@gmail.com

SUMMARY

Myopia in children – diagnosis and methods of correction

Željana Matutinović Odak, Ana Vučinović

Myopia is the most common cause of vision loss worldwide. With more than 80 million myopic children worldwide, it is becoming a significant socioeconomic and public health problem. High myopia is associated with complications such as glaucoma, retinal detachment, and macular degeneration. Many studies are conducted to determine etiological and other risk factors, methods of early diagnosis, and ways to prevent the onset and progression of myopia.

Key words: OPHTHALMOLOGY; MYOPIA; CHILD; RISK FACTORS; EARLY DIAGNOSIS

Kako prepoznati strabizam u pedijatrijskoj ordinaciji i prevenirati slabovidnost

Boško Jakšić, Siniša Skelin, Irena Marković*

Strabizam je često stanje u dječjoj dobi koje se može prepoznati u pedijatrijskoj ordinaciji uz pomoć nekoliko jednostavnih testova, a najvažniji je tzv. "cover test". Slabovidnost se definira kao smanjenje vidne oštine uzrokovano deprivacijom vida ili abnormalnom binokularnom interakcijom za koju se fizikalnim pregledom ne mogu utvrditi uzroci i koja je, u odgovarajućim slučajevima, reverzibilna terapijskim mjerama.

Ključne riječi: STRABIZAM; DIJETE; SLABOVIDNOST

Strabizam, škiljavost ili tropija je stanje neusklađenosti položaja očiju. Položaj očiju uvjetovan je radom šest ekstraokularnih mišića, četiri ravna i dva kosa mišića. Dok neki slučajevi strabizma imaju razvojnu ili neurološku osnovu, mnogi oblici strabizma su posljedica anatomske abnormalnosti, a neke anatomske abnormalnosti, kao što je paralitička mišićna atrofija, mogu biti posljedica denervacije (1). Strabizam može biti komitantni (jednak kut bježanja u svim smjerovima pogleda) i inkomitantni (različit kut bježanja) čiji je najvažniji predstavnik paralitički oblik.

Prevalencija strabizma u dječjoj populaciji iznosi od 2 do 5 %. U bijeloj rasi češći je konvergentni strabizam (70 %) u odnosu na divergentni strabizam (30 %).

Čest razlog pregleda oftalmologa jest sumnja na strabizam u prvoj godini života je zapravo pseudostrabizam. To je stanje kada su oči postavljane sasvim normalno, ravno (ortopoložaj), ali zbog epikantusa, hipertelorizma, interpupilarne udaljenosti ili kappa-kuta izgleda kao da je prisutan strabizam (2). Pseudoezotropija je najčešći oblik pseudostrabizma. To je lažni izgled križanja očiju koji se najčešće javlja u dojenčadi i djece sa širokim nosnim mostom i/ili velikim epikantalnim nabori-

ma tijekom prvih nekoliko godina života. Riječ je o optičkoj iluziji u kojoj široki nosni hrbat ili epikantalni nabori prekrivaju nazalnu stranu bjeloočnice, zbog čega oko izgleda ezotropno, osobito kada dijete gleda bočno. Možemo zamoliti roditelje da pregledaju svoje pametne telefone i prepoznaju stare fotografije na kojima misle da su oči njihova djeteta ukrštene. Često će usmjeravanje roditeljske pozornosti na djetetove uši na fotografijama naglasiti činjenicu da glava nije ravna jer je jedno uho puno očitije od drugog.

Očna nestabilnost u djetinjstvu je stanje koje se odnosi na nestabilno poravnanje očiju koje je često prisutno u normalne novorođenčadi i dojenčadi tijekom prvih nekoliko mjeseci života. Karakterizira ga povremena egzo ili ezo devijacija očiju i obično se ne vidi nakon četiri do šest mjeseci starosti (3).

Liječnici pedijatri u svojoj ordinaciji mogu otkriti strabizam s nekoliko jednostavnih kliničkih testova. Najvažnije je otkriti manifestna odstupanja jer imaju veći potencijal uzrokovati ambliopiju, funkcionalno smanjenje vidne oštine oka uzrokovano

*Klinika za očne bolesti, KBC Split, Spinčičeva 1, 21000 Split

neuporabom tijekom kritičnog razdoblja razvoja vida. Latentna odstupanja rijetko su povezana s ambliopijom. Osim toga, važno je isključiti uzroke senzornog strabizma koji mogu biti opasni po život (npr. retinoblastom); nakon leukokorije, ezotropija je najčešći znak retinoblastoma (4).

PREGLED DJETETA SA STRABIZMOM

Anamnezom odnosno heteroanamnezom počinje dijagnostika strabizma. Ona uključuje obiteljsku anamnezu (postoji li strabizam u obitelji), vrijeme poroda, vrijeme nastanka strabizma, je li strabizam prisutan cijelo vrijeme ili samo povremeno (npr. kod umora ili u febrilitetu), zatvara li djetete oko pri jakom svjetlu, postoje li glavobolje, dvoslike, druge bolesti.

Fizikalni pregled treba uključivati procjenu općeg zdravlja i neurološkog statusa, uključujući procjenu razvoja. Treba obratiti pozornost na prisutnost abnormalnog položaja glave (npr. naginjanje ili okretanje). Okularni tortikolis posljedica je pareze mišića (najčešće gornjeg kosog mišića), a može biti i posljedica okularnog nistagmusa te kosog astigmatizma. Potrebno je ispitati bulbomotoriku, tj. pokretljivost očiju u devet smjerova kako bi se otkrilo je li riječ o pratećem (konkomitantnom) ili kut škiljenja u svim smjerovima pogleda) ili paralitičkom (inkomitantnom-ograničena pokretljivost oka u smjeru djelovanja paraliziranog ili paretičnog mišića).

Kornealni svjetlosni refleks — test rožničnog svjetlosnog refleksa, koji se naziva i Hirschbergov test, često se koristi kao početni test za strabizam. U ovom testu, akomodacijska meta (npr. mala igračka) drži se otprilike 1 m ispred djetetova lica, a svjetiljka se drži pored igračke. Ako je poravnanje oka normalno, svjetlosni refleks je središnje postavljen i simetrično u svakom oku. Skretanje refleksa svjetla rožnice na jednom oku primjećuje se ako je prisutna umjerena do velika neusklađenost oka. Svaki milimetar odklona povezan je s približno 7 do 10 stupnjeva odstupanja (5). Budući da test refleksa svjetlosti rožnice može previdjeti mala odstupanja, trebao bi se koristiti s testom pokrivanja i testom pokrivanja/otkrivanja.

“Cover test” (test pokrivanja) jedan je od najvažnijih testova koji se koristi u otkrivanju mani-

festnog strabizma (tropija). U ovom testu od djeteta se traži da vizualno fiksira metu na daljinu ili blizinu. Ispitivač nakratko pokrije jedno oko dok promatra kretanje suprotnog oka. Ako dijete ima normalan položaj oka, ne otkrivaju se nikakvi pokreti kada pokriva bilo koje oko (ortotropija). Manifestni strabizam (tropija) je prisutan ako se oko koje nije pokriveno “cover testom” pomakne kako bi fiksiralo metu. Test treba ponoviti na svakom oku. Dijete treba uputiti dječjem oftalmologu ako se sumnja na manifestni strabizam.

“Cover/uncover test” (test pokrivanja/otkrivanja) koristi se za otkrivanje latentnog strabizma (forije). U ovom testu od djeteta se traži da vizualno fiksira cilj na daljinu ili blizinu. Okluder (najčešće dlan) se stavlja na jedno oko na nekoliko sekundi, a zatim se brzo uklanja. Oko koje je bilo pokriveno promatra se radi refleksacijskog pokreta. Ako je forija prisutna, prethodno pokriveno oko vratit će se u ortotropni (ravno naprijed) položaj kako bi se ponovno uspostavilo senzorno spajanje s drugim okom. Ako se detektira takav pokret, prisutan je latentni strabizam. Male, jedva primjetne forije su česte i nisu patološke. Velike forije mogu biti povezane s astenopijom (naprezanjem očiju) i diplopijom i treba ih pregledati oftalmolog.

Brücknerov test, također poznat kao test simultanog crvenog refleksa, još je jedan test koji je koristan u otkrivanju strabizma malog kuta (6, 7). U ovom testu, ispitivač se postavlja na pola metra od djetetova lica i koristi izravni oftalmoskop s najvećim promjerom svjetla kako bi istovremeno promatrao oba djetetova crvena refleksa. Leće na oftalmoskopu se namještaju sve dok koža oko očiju ne bude u fokusu, a pozornost djeteta usmjerena je na metu uz izravni oftalmoskop. To omogućuje istovremeno ispitivanje obaju crvenih refleksa zjenice. Moraju biti identične veličine, oblika, boje i svjetline.

SLABOVIDNOST

Slabovidnost (ambliopija) je najčešći uzrok oštećenja vida u djece, a često traje i u odrasloj dobi. Procjenjuje se da je prevalencija u djetinjstvu oko 2,4 % (1). Unilateralna ambliopija definira se kao razlika u vidnoj oštadini od najmanje dvije linije. Najčešće je uzrokovana refrakcijskom greškom, a strabizam i strabizam u kombinaciji s refrakcijskom greškom također su česti uzroci. Etiologija

ambliopije može se lako prisjetiti pomoću sljedećeg mnemotehničkog znaka: S.O.S. Spectacles – naočale (anizometropija, visoka kratkovidna ili hiperopična greška refrakcije), Okluzija (zamućenja medija, bolest mrežnice, patologija vidnog živca, bolest rožnice itd.) i Strabizam.

LIJEČENJE

Liječenje refraktivnih uzroka treba započeti propisivanjem potrebnih naočala. Ako naočale ne uspiju ispraviti problem nakon različitog razdoblja refraktivne prilagodbe, potrebno je propisati okluziju flasterom najmanje dva sata dnevno ili atropinske kapi za oko najmanje dva puta tjedno u “vođem” oku (penalizacija). Liječenje je najučinkovitije prije dobi od sedam godina, ali često postoji korist od liječenja za većinu djece do dobi od 12 godina. Trenutačni dokazi pokazuju da je korist od liječenja ambliopije trajna.

LITERATURA

1. Lyons JC, Lambert RS. Taylor and Hoyt's pediatric ophthalmology and strabismus. 6th ed. Elsevier; 2022. p. 838-46.
2. Čupak K. Pedijatrijska oftalmologija. Zagreb: Globus; 1997. p. 200-2.
3. Archer SM, Sondhi N, Helveston EM. Strabismus in infancy. Ophthalmology. 1989 Jan;96(1):133-7. PMID: 2919045.
4. Abramson DH, Frank CM, Susman M, Whalen MP, Dunkel IJ, Boyd NW 3rd. Presenting signs of retinoblastoma. J Pediatr. 1998 Mar;132(3 Pt 1):505-8. PMID: 9544909.
5. Von Noorden GK. Atlas of strabismus. 4th ed. Mosby; 1983.
6. Arnold RW. Vision screening in Alaska: experience with enhanced Brückner test. Alaska Med. 1993 Jul-Sep;35(3):212-5. PMID: 8109692.
7. American Academy of Pediatrics, Section on Ophthalmology, American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus, American Academy of Ophthalmology, American Association of Certified Orthoptists. Red reflex examination in neonates, infants, and children. Pediatrics. 2008 Dec;122(6):1401-4. Erratum in: Pediatrics. 2009 Apr;123(4):1254. PMID: 19047263.

Adresa za dopisivanje:

Boško Jakšić, dr. med.

Klinika za očne bolesti, KBC Split

Spinčičeva 1, 21000 Split

E-mail: bjaksic@kbsplit.hr

SUMMARY

How to recognize strabismus in the pediatric office and prevent amblyopia

Boško Jakšić, Siniša Skelin, Irena Marković

Strabismus is a common condition in childhood that can be recognized in the pediatric office with the help of a few simple tests, the cover test being the most important one. Amblyopia is defined as a decrease of visual acuity caused by vision deprivation or abnormal binocular interaction for which no causes can be detected by the physical examination of the eye and which, in appropriate cases, is reversible by therapeutic measures.

Key words: STRABISMUS; CHILD; AMBLYOPIA

Sjaj u tami: snaga crvenog refleksa

Mirjana Bjeloš^{1,2,3,4}, Ana Ćurić^{1,3}, Mladen Bušić^{1,2,3,4},
Biljana Kuzmanović Elabjer^{1,2,3}, Benedict Rak¹, Katja Rončević⁵

Cilj: Dana 30. ožujka 2022. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) objavila je prve globalne smjernice za postnatalno razdoblje, naglašavajući važnost sveobuhvatne skrbi za žene i novorođenčad tijekom prvih šest tjedana nakon poroda. Među ključnim preporukama bilo je uključivanje univerzalnog pregleda očiju novorođenčadi (NES, engl. newborn eye screening), što predstavlja značajan napredak u oftalmološkoj skrbi djece. Ova inicijativa poziva resorna ministarstva da integriraju NES u rutinske usluge zdravstvene zaštite majke i djeteta i nacionalne zdravstvene programe, u skladu s rezolucijom Opće skupštine Ujedinjenih naroda iz 2021., “Vision for Everyone”.

Primarni cilj je promicati svijest i osnažiti pružatelje zdravstvenih usluga i zajednice da daju prioritet zdravlju vida u djece, s naglaskom na korištenje testa crvenog refleksa. Ovaj test, jednostavan ali ključan alat za probir, olakšava rano otkrivanje kongenitalnih stanja opasnih po vid i život kao što su: katarakta, glaukom i intraokularni tumori, uključujući retinoblastom, tijekom kritičnog razdoblja razvoja vida.

Metode: Proveden je narativni pregled literature kako bi se istražili relevantni izvori o skrbi za majke i novorođenčad, kao i o pedijatrijskom oftalmološkom skriningu. Pretraga literature provedena je tijekom 1.–31. prosinca 2024. korištenjem PubMed-a i službenih WHO biltena. Odačbrani su radovi i smjernice na temelju njihove relevantnosti za temu. Navedene reference uključuju preporuke Svjetske zdravstvene organizacije, nacionalnih zdravstvenih programa i značajnih znanstvenih radova u tom području.

Rezultati: Republika Hrvatska je 21. prosinca 2020. donijela Plan i program mjera zdravstvene zaštite 2020. – 2022. (Narodne novine, NN 142/2020). U odjeljku 2.2.27. Pedijatrija, pododjeljak Neonatologija, uvedena je mjera Probir vida sve novorođenčadi testiranjem crvenog refleksa. Test koji se provodi direktnim oftalmoskopom – standardnim obaveznim dijelom medicinsko-tehničke opreme u svim pedijatrijskim ordinacijama (Narodne novine, NN 61/2011) – provodi se odmah nakon poroda u rodilištima i ponovno u dobi od mjesec dana tijekom sistematskog pregleda. Navedeni postupak je sada standardna praksa.

Test crvenog refleksa je brz i jednostavan test. Vodeće globalne zdravstvene organizacije, uključujući Američku pedijatrijsku akademiju i Kraljevski koledž oftalmologa, preporučuju ga ne samo

¹Klinika za očne bolesti, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za dječju oftalmologiju i strabizam, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za nasljedne mrežnične distrofije, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za standardiziranu ehografiju u oftalmologiji, Klinička bolnica “Sveti Duh”, Zagreb, Hrvatska

²Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

³Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

⁴Suradni centar Svjetske zdravstvene organizacije za dječju oftalmologiju

⁵CRO-16Hrvatsko katoličko sveučilište, Medicinski fakultet, Zagreb, Hrvatska

kao dio pregleda novorođenčeta, već i kao dio sistematskih pregleda kasnije tijekom ranog djetinjstva. Brückner je prvi opisao test 1962. Test uključuje promatranje refleksije svjetlosti od žilnice kroz prozirne očne medije. Abnormalni nalazi – kao što je odsutan, asimetričan ili nepravilan refleks – mogu ukazivati na stanja koja zahtijevaju hitnu medicinsku intervenciju, uključujući kataraktu, glaukom ili retinoblastom. Brza dijagnoza i liječenje tijekom kritičnog razdoblja razvoja vida, obično unutar prvih šest tjedana života, ključni su za optimalne rezultate liječenja.

Kongenitalne katarakte, koje čine približno 10 % dječje sljepoće u svijetu, predstavljaju jedan od uzroka značajnog oštećenja vida koji se može liječiti, ali u vremenski ograničenom razdoblju. Za razliku od odgađanja operacije katarakte kod odraslih, odgađanje intervencije kod dojenčadi – operaciju je idealno provesti unutar šest do dvanaest tjedana postnatalno – može dovesti do nepovratnog oštećenja vida, kao što je deprivacijska ambliopija. Nadalje, odgođena dijagnoza stanja poput retinoblastoma značajno povećava rizik razvoja neželjenih događaja; odgoda od 8 tjedana povećava vjerojatnost lokalne invazije, dok odgoda od 6 mjeseci značajno povećava rizik od ekstraokularnog širenja malignoma.

Zaključci: Integracija testa crvenog refleksa u Plan i program mjera zdravstvene zaštite koji je podržala vlada Republike Hrvatske odražava strateški pristup rješavanju preventabilnih uzroka sljepoće. Kad god se identificira patološki crveni refleks, ključno je učiniti sveobuhvatan oftalmološki pregled u roku od sedam dana. Osim toga, dojenčad ili djeca s povećanim rizikom od nepovratnog gubitka vida ili stanja opasnih po život – poput onih s obiteljskom anamnezom retinoblastoma, kongenitalnog glaukoma ili drugih očnih bolesti s početkom u ranom djetinjstvu – trebaju biti upućena na oftalmološki pregled bez obzira na rezultate testa crvenog refleksa.

Test crvenog refleksa služi kao ključan alat za prevenciju sljepoće u djece, spašavanje života, kao i poboljšanje kvalitete života. Zalažemo se za usvajanje ove jednostavne, učinkovite mjere za zaštitu vida i ukupnog razvoja djeteta. Uključivanjem testa crvenog refleksa u rutinsku medicinsku skrb tijekom ranog djetinjstva, pružatelji zdravstvenih usluga mogu značajno utjecati na razvoj vida u djece, osiguravajući bolji život budućim generacijama.

Ključne riječi: DIJETE; TESTOVI VIDA; KATARAKTA; RETINOBLASTOM; AMBLIOPIJA

LITERATURA/REFERENCES

1. World Health Organization. WHO recommendations on maternal and newborn care for a positive postnatal experience. Geneva: World Health Organization; 2022.
2. Ministarstvo zdravstva. Plan i program mjera zdravstvene zaštite 2020–2022. Available from: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2020_12_142_2753.html. Accessed Jan 18, 2025.
3. American Academy of Pediatrics, Section on Ophthalmology, American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus, American Academy of Ophthalmology, American Association of Certified Orthoptists. Red reflex examination in neonates, infants, and children. *Pediatrics*. 2008;122(6):1401–4. doi: 10.1542/peds.2008-1580.
4. Rahi J, Williams C, Bedford H, Elliman D. Screening and surveillance for ophthalmic disorders and visual deficits in children in the United Kingdom. *Br J Ophthalmol*. 2001; 85(3):257–9. doi: 10.1136/bjo.85.3.257.

5. World Health Organization. Vision and eye screening implementation handbook. Geneva: World Health Organization; 2023.
6. World Health Organization. Package of eye care interventions. Geneva: World Health Organization; 2022.

Adresa za dopisivanje:

prof. dr. sc. **Mirjana Bjeloš**, dr. med.

Klinika za očne bolesti, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za dječju oftalmologiju i strabizam, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za nasljedne mrežnične distrofije, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za standardiziranu ehografiju u oftalmologiji, Klinička bolnica "Sveti Duh" Zagreb
Sveti Duh 64, 10 000 Zagreb, Hrvatska
e-mail: dr.mbjelos@gmail.com

SUMMARY

Catching the glow: the power of red reflex screening

Mirjana Bjeloš, Ana Ćurić, Mladen Bušić, Biljana Kuzmanović Elabjer,
Benedict Rak, Katja Rončević

Aim: On March 30, 2022, the World Health Organization (WHO) released its inaugural global guidelines for the postnatal period “WHO recommendations on maternal and newborn care for a positive postnatal experience”, underscoring the importance of comprehensive care for women and newborns during the first six weeks postpartum. Among the landmark recommendations was the inclusion of universal newborn eye screening (NES), marking a significant advancement in pediatric eye health. This initiative calls on national governments to integrate NES into routine maternal and child healthcare services and national health programs, aligning with the United Nations General Assembly’s 2021 resolution, Vision for Everyone.

The primary goal is to promote awareness and empower healthcare providers and communities to prioritize pediatric eye care, particularly the essential red reflex test. This test, a straightforward yet critical screening tool, facilitates the early detection of congenital, vision- and life-threatening conditions such as cataracts, glaucoma, and intraocular tumors, including retinoblastoma, during the critical period of visual development.

Methods: A narrative literature review was conducted to explore relevant sources on maternal and newborn care, as well as pediatric ophthalmic screening. The literature search was performed using PubMed and official WHO bulletins, during 2024, December 1-31. Studies and guidelines were selected based on their relevance to the topic. The extracted references include recommendations from WHO, national healthcare programs, and significant research articles in the field.

Results: On December 21, 2020, Croatia enacted the Plan and Program of Health Care Measures 2020–2022 (Official Gazette, NN 142/2020). Under section 2.2.27 Pediatrics, subsection Neonatology, the measure Vision Screening of All Newborns Using the Red Reflex Test was introduced. The test, conducted with a direct ophthalmoscope – a standard „must“ piece of medical-technical equipment in all pediatric practices (Official Gazette, NN 61/2011) – is performed immediately after birth in maternity hospitals and again at one month of age during routine examinations. This procedure has now become a standard practice.

The red reflex test is a quick and simple procedure. Leading global healthcare organizations, including the American Academy of Pediatrics and the Royal College of Ophthalmologists, recommend it not only as part of neonatal assessments but also at specific intervals throughout early childhood. First described by Brückner in 1962, the test involves observing the reflection of light off the choroid through clear ocular media. Abnormal findings – such as an absent, asymmetric, or irregular reflex – may indicate conditions requiring urgent medical intervention, including cataracts, glaucoma, or retinoblastoma. Prompt diagnosis and treatment during the critical period of visual development, typically within the first six weeks of life, are vital for optimal outcomes.

Congenital cataracts, which account for approximately 10 % of childhood blindness globally, represent a treatable but time-sensitive cause of significant visual impairment. Unlike delays in adult cataract surgery, postponing intervention in infants (ideally intervention should be performed within six to twelve weeks postnatally) can lead to irreversible damage, such as deprivation amblyopia. Furthermore, delayed diagnosis of conditions like retinoblastoma significantly

increases risks; an 8-week delay raises the likelihood of local invasion, while a delay of 6 months drastically heightens the risk of extraocular extension.

Conclusions: Integrating the red reflex test into Croatia's government-directed Plan and Program of Health Care Measures reflects a strategic approach to addressing preventable blindness. Whenever a pathological red reflex is identified, an urgent comprehensive ophthalmological examination must occur within seven days to align with the critical developmental timeframe. Additionally, infants or children at elevated risk of irreversible vision loss or life-threatening conditions – such as those with a family history of retinoblastoma, congenital glaucoma, or other early-onset eye diseases – should undergo a detailed ophthalmological assessment regardless of initial test results.

The red reflex test serves as a pivotal strategy to eliminate preventable childhood blindness, save lives, and enhance quality of life. We advocate for the widespread adoption of this simple, cost-effective measure to protect children's vision and overall development. By incorporating the red reflex test into routine medical care throughout early childhood, healthcare providers can significantly influence the trajectory of ocular health, ensuring better outcomes for future generations.

Key words: CHILD; VISION TESTS; CATARACT; RETINOBLASTOMA; AMBLYOPIA

P(r)ogledajmo na vrijeme: prevencija ambliopije ranim otkrivanjem

Mladen Bušić^{1,2,3,4}, Mirjana Bjeloš^{1,2,3,4}, Ana Ćurić^{1,3},
Biljana Kuzmanović Elabjer^{1,2,3}, Benedict Rak¹

Cilj: Poremećaji vida u djece od iznimnog su javnozdravstvenog interesa i predstavljaju vodeći uzrok invaliditeta tijekom djetinjstva. Ambliopija, smanjena vidna oštrina na jednom ili oba oka koja se ne može korigirati, najčešće je oštećenje vida u djece predškolske dobi. Liječenje ambliopije učinkovito je samo tijekom kritičnog razdoblja razvoja vidnog korteksa, koje traje do otprilike sedme godine života. Terapijske intervencije za restauraciju vida nakon tog razdoblja općenito su neučinkovite.

Uvođenje bilo kojeg protokola probira kao dijela nacionalne zdravstvene politike nadilazi medicinska i znanstvena pitanja, politička, ekonomska i etička razmatranja. U studenom 2020., tijekom 73. skupštine Svjetske zdravstvene organizacije (SZO), države članice usvojile su Rezoluciju WHA73.4, koja je naglasila važnost oftalmološke skrbi utemeljene na dokazima u cjelovitosti pružanja zdravstvene zaštite. Ova Rezolucija naglašava ključnu potrebu za rješavanjem preventabilnih uzroka oštećenja vida i sljepoće, posebice kroz rano otkrivanje i implementaciju ranih strategija liječenja. Republika Hrvatska provodi preporuke SZO, posebice u prevenciji ambliopije kroz Nacionalni preventivni program ranog otkrivanja slabovidnosti (NPPROS), a potom i kroz razvoj e-registra za rano otkrivanje ambliopije (CRO-READ, engl. Croatian Registry for Early Amblyopia Detection).

Ovaj rad ima za cilj predstaviti hrvatski model prevencije ambliopije – NPPROS. Model naglašava standardiziranu provjeru vidne oštine kod četverogodišnjaka, osiguravajući pravovremeno otkrivanje i liječenje ambliopije kako bi se poboljšali javnozdravstveni ishodi.

Metode: Proveden je pregled literature kako bi se istražili ključni izvori vezani uz rani probir na slabovidnost i intervencije vezane uz pedijatrijsku oftalmološku skrb. Pretraga literature provedena je tijekom 1.-31. prosinca 2024. godine, korištenjem PubMed-a i službenih WHO resursa. Radovi i smjernice odabrani su na temelju njihove relevantnosti i značaja za temu. Navedene

¹Klinika za očne bolesti, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za dječju oftalmologiju i strabizam, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za nasljedne mrežnične distrofije, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za standardiziranu ehografiju u oftalmologiji, KB "Sveti Duh", Zagreb, Hrvatska

²Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

³Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

⁴Suradni centar Svjetske zdravstvene organizacije za dječju oftalmologiju, CRO-16

reference uključuju preporuke nacionalnih društava, Svjetske zdravstvene organizacije, i značajne znanstvene radove u tom području.

Rezultati: Od rujna 2011. do lipnja 2014. Klinika za očne bolesti Kliničke bolnice "Sveti Duh", Zagreb provela je probirne preglede na slabovidnost u dječjim vrtićima Grada Zagreba, kojima je bilo obuhvaćeno oko 16.000 četverogodišnje djece. Ova ZAPS (engl. Zagreb Amblyopia Preschool Screening) studija je utvrdila stopu prevalencije ambliopije od 8,1 %, što odgovara procijenjenom broju od 300.000 slabovidnih osoba u Hrvatskoj. Na temelju ovih rezultata, Ministarstvo zdravstva Republike Hrvatske od lipnja 2015. uvelo je obvezni probir na ambliopiju za sve četverogodišnjake. Od 2019. NPPROS provodi se sustavnim pozivanjem četverogodišnjaka slanjem personaliziranih pozivnih pisama i informativnih materijala na kućnu adresu koje distribuira Hrvatski zavod za javno zdravstvo, s definiranim datumom, satom i ustanovom pregleda.

NPPROS koristi jasno definirane standardizirane protokole za testiranje vidne oštine, po uzoru na ZAPS studiju koja je pokazala testabilnost od 99 %, osjetljivost od 100 % i specifičnost od 97 %. Pregled uključuje testiranje binokularne i monokularne vidne oštine na blizinu (40 cm) i daljinu (3 m) s pomoću logMAR linijskih optotipa. Djeca koja ne zadovolje kriterije probira upućuju se na kompletan oftalmološki pregled.

Analizom podataka iz CRO-READ-a, potvrđeno je da je kriterij za normalnu vidnu oštrinu u četverogodišnje djece $\leq 0,1$ logMAR. Kod djece koja su uspješno prošla probir izračunata je srednja vrijednost vidne oštine od $0,91 \pm 0,1$. U dobi od 4 godine dječaci su manje testabilni u odnosu na djevojčice. Djeca upućena na kompletan pregled zbog binokularnih uzroka pokazala su nižu srednju vrijednost vidne oštine 0,3 za razliku od prosječnih 0,6 kod djece upućene zbog monokularnih uzroka. Ovaj nesrazmjer moguće odražava trend razvoja vida prema binokularnoj, a ne monokularnoj ambliopiji, kako bi se održala binokularna ravnoteža.

Zaključci: NPPROS danas djeluje u 21 županiji RH, sa 106 oftalmoloških timova na 56 lokacija. Između 2019. i 2023. pregledano je 95 032 djece, te je postignut odaziv od 50 %, unatoč prekidima tijekom pandemije COVID-19. Među ispitanima, 20,1 % četverogodišnjaka je upućeno na kompletan pregled.

NPPROS riješio je kritičan raniji nedostatak nepostojanja probira u predškolskoj dobi. Naime, prethodna praksa odgađala je testiranje vidne oštine do upisa u školu. Uvođenjem nacionalnog e-registra, razvijenog u suradnji Kliničke bolnice "Sveti Duh" i Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, pojednostavljuje se upravljanje podacima i omogućuje praćenje ishoda programa u stvarnom vremenu.

Hrvatski model prevencije ambliopije primjer je brige o zdravlju vida kod djece. NPPROS kombinira kliničke preglede s naprednom tehnološkom infrastrukturom kroz e-registar, te može poslužiti i kao primjer za druge države. Kontinuirano ulaganje u edukaciju javnosti, zdravstvo i tehnologiju bit će ključni za održavanje i unapređenje uspjeha programa. Kao što je SZO naglasila 1968. godine, programi skrininga vida obilježja su nacionalnog razvoja. Ovi naponi svrstavaju Republiku Hrvatsku među najnaprednije zemlje u promicanju i očuvanju zdravlja vida kod djece.

Ključne riječi: AMBLIOPIJA; MASOVNI PROBIR; DIJETE; RANA DIJAGNOSTIKA; REGISTRI

LITERATURA/REFERENCES

1. Bušić M, Bjeloš M, Petrovečki M, et al. Zagreb Amblyopia Preschool Screening Study: Near and distance visual acuity testing increase the diagnostic accuracy of screening for amblyopia. *Croat Med J*. 2016;57(1):29-41.
2. World Health Organization. Seventy-third world health assembly. Integrated people-centred eye care, including preventable vision impairment and blindness. Available from: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA73/A73_R4-en.pdf. Accessed on: Jan 19, 2025.
3. Ministarstvo zdravstva Republike Hrvatske. Nacionalni Preventivni Program Ranog Otkrivanja Slabovidnosti 2018–2028. Available from: <https://zdravlje.gov.hr/User-Docs/Images//2018%20Natječaj//Nacionalni%20preventivni%20program%20ranog%20otkrivanja%20slabovidnosti%202018.-2028.%20scan.pdf>. Accessed on: Jan 19, 2025.
4. World Health Organization. Package of eye care interventions. Geneva: World Health Organization; 2022.

5. World Health Organization. World report on vision. Geneva: World Health Organization; 2019.
6. Bjeloš M, Bušić M, Rak B, Ćurić A, Kuzmanović Elabjer B. Unveiling Visual Acuity in 58,712 Four-Year-Olds: Standardized Assessment Defined Normative Visual Acuity Threshold. *Vision (Basel)*. 2024;8(2):39. doi:10.3390/vision8020039.

Adresa za dopisivanje:

prof. dr. sc. **Mladen Bušić**, prim. dr. med.

Klinika za očne bolesti, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za dječju oftalmologiju i strabizam, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za nasljedne mrežnične distrofije, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za standardiziranu ehografiju u oftalmologiji, Klinička bolnica “Sveti Duh” Zagreb
Sveti Duh 64, 10 000 Zagreb, Hrvatska
e-mail: mbsusic@kbsd.hr

SUMMARY

Winning the battle: preventing amblyopia with early detection

Mladen Bušić, Mirjana Bjeloš, Ana Ćurić, Biljana Kuzmanović Elabjer, Benedict Rak

Aim: Vision disorders in children are a critical public health concern, representing the leading cause of disabling conditions during childhood. Amblyopia, characterized by decreased visual acuity in one or both eyes that cannot be corrected through refractive means, is the most prevalent visual impairment in preschool-aged children. Treatment of amblyopia is effective only during a critical developmental period of the visual cortex, which extends up to approximately seven years of age. Interventions beyond this period are generally ineffective.

The introduction of any screening protocol as part of national health policy transcends medical and scientific concerns, encompassing political, economic, and ethical considerations. In November 2020, during the Seventy-third World Health Assembly, the World Health Organization (WHO) Member States adopted Resolution WHA73.4, which underscored the importance of incorporating evidence-based, cost-effective eye care into universal health coverage. This resolution emphasizes the need to address preventable vision impairments and blindness, particularly through early detection and treatment strategies. Croatia has implemented WHO's recommendations regarding the prevention of amblyopia. Central to this initiative is the introduction of the National Preventive Program of Early Amblyopia Detection (NPPEAD), and subsequent development of the e-registry: Croatian Registry for Early Amblyopia Detection (CRO-READ).

This paper aims to present Croatia's amblyopia prevention model – NPPEAD. The model emphasizes visual acuity screening for four-year-olds, ensuring timely detection and treatment of amblyopia to improve vision and public health outcomes.

Methods: A narrative literature review was conducted to examine key sources related to early amblyopia screening and eye care interventions. The literature search was conducted during 2024, December 1-31, using PubMed and official WHO resources. Studies and guidelines were selected based on their relevance and importance to the subject matter. The retrieved references included both national and international recommendations, research on vision screening, and reports on global eye care initiatives.

Results: Between September 2011 and June 2014, the University Eye Department at the University Hospital Sveti Duh conducted amblyopia screenings within kindergartens in the City of Zagreb, encompassing approximately 16,000 four-year-old children. This ZAPS (Zagreb Amblyopia Preschool Screening) study identified an amblyopia prevalence rate of 8.1 %, equating to an estimated 300,000 individuals in Croatia. Based on these findings, the Croatian Ministry of Health implemented mandatory amblyopia screening for all four-year-olds as of June 2015. By 2019, NPPEAD had achieved full nationwide coverage, with all four-year-olds systematically invited to participate in screenings through personalized invitations and informational materials disseminated by the Croatian Public Health Institute.

The NPPEAD employs rigorously standardized protocols for visual acuity testing, modeled on the ZAPS study, which demonstrated a testability rate of 99 %, a sensitivity of 100 %, and a specificity of 97 %. The screenings include binocular and monocular visual acuity assessments conducted at near (40 cm) and distance (3 m) using logMAR inline optotypes. Children who fail to meet the screening criteria are referred for comprehensive ophthalmological evaluations.

Analysis of data from the program's e-registry yielded significant findings. The cutoff value for normal visual acuity in four-year-old children was confirmed to be ≤ 0.1 logMAR. Among children who successfully passed the screening, the mean visual acuity was calculated at 0.91 ± 0.1 . It was also observed that at the age of four, males were more likely to be nontestable. Furthermore, children referred for follow-up due to binocular causes exhibited a lower mean visual acuity of 0.3, in contrast to a mean of 0.6 for those referred for monocular causes. This disparity reflects a developmental trend toward binocular amblyopia, wherein the visual system adapts to maintain binocular balance.

Conclusions: The NPPEAD operates across all 21 Croatian counties, with 106 ophthalmological teams at 56 locations. Between 2019 and 2023, 95,032 children were screened, achieving a 50 % response rate despite interruptions during the COVID-19 pandemic. Among those screened, 20.1 % were referred for further evaluation.

Croatia's program addresses a critical gap by initiating screenings at age four, a significant improvement over prior practices that delayed testing until school enrollment. The introduction of the national e-registry, developed in collaboration with University Hospital "Sveti Duh", Zagreb and the Croatian Institute of Public Health, simplifies data management and provides real-time monitoring of program outcomes.

Croatia's amblyopia prevention model combines systematic screenings with advanced technological infrastructure. Its alignment with WHO's global vision care initiatives and the innovative use of an e-registry sets a benchmark for other nations. Continued investment in public awareness, professional training, and technological advancements will be critical to sustaining the program's success. As the WHO emphasized in 1968, vision screening programs are hallmarks of national development. Croatia's efforts position it among the most progressive countries in promoting and safeguarding children's eye health.

Key words: AMBLYOPIA; MASS SCREENING; CHILD; EARLY DIAGNOSIS; REGISTRIES

Sjaj u očima: razotkrivanje crvenog refleksa

Mirjana Bjeloš^{1,2,3,4}, Ana Ćurić^{1,3}, Mladen Bušić^{1,2,3,4},
Biljana Kuzmanović Elabjer^{1,2,3}, Benedict Rak¹, Katja Rončević⁵

Cilj: Test crvenog refleksa (RRT, engl. red reflex test) jednostavan je, neinvazivni alat za probir vida koji je uveo Brückner 1962. godine, prvotno za pregled nesuradljivih bolesnika. Test se temelji na refleksiji svjetlosti od žilnice kroz prozirne optičke medije, uključujući rožnicu, očnu vodicu, leću i staklasto tijelo. Iako je koncept jednostavan, postizanje točnih i pouzdanih rezultata zahtijeva savladavanje nekoliko praktičnih izazova.

Ovaj rad ima za cilj pružiti praktične smjernice kliničarima za usavršavanje njihove tehnike i poboljšanje učinkovitosti RRT-a za rano otkrivanje stanja opasnih po vid i život, kao što je retinoblastom.

Metode: Proveden je narativni pregled literature kako bi se istražili relevantni izvori o skrbi za majke i novorođenčad, kao i o pedijatrijskom oftalmološkom skriningu. Pretraga literature provedena je tijekom 1.–31. prosinca 2024., korištenjem PubMed-a i službenih WHO biltena. Odbrani su radovi i smjernice na temelju njihove relevantnosti za temu. Navedene reference uključuju preporuke Svjetske zdravstvene organizacije, nacionalnih zdravstvenih programa i značajnih znanstvenih radova u tom području.

Rezultati: Izvođenje testa: Kliničar bi trebao započeti pregled na otprilike 1 metar od pacijenta ili većoj udaljenosti ako je dijete nervozno ili ne želi surađivati i postupnim vraćanjem u standardni položaj od 1 metra. S te je udaljenosti potrebno obje zjenice osvijetliti istovremeno svjetlom direktnog oftalmoskopa, što omogućuje izravnu usporedbu crvenih refleksa. Kada oba oka istovremeno fiksiraju i fokusiraju svjetlo oftalmoskopa, zjenice se suze, refleksi na rožnici budu centralno položeni, a crveni refleks iz očnog dna postane osjetno tamniji. Najčešći razlog izostanka crvenog refleksa je uska zjenica. Nakon toga treba izvršiti monokularni naizmjenični pregled oba oka na udaljenosti od približno 40 cm za detaljniju analizu.

Česti problemi i rješenja:

1. Izoštavanje slike

Ispravno pozicioniranje: Držite oftalmoskop blizu oka, postavite jačinu leće oftalmoskopa na "0" i svjetlo usmjerite na zjenicu oka bolesnika.

¹Klinika za očne bolesti, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za dječju oftalmologiju i strabizam, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za nasljedne mrežnične distrofije, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za standardiziranu ehografiju u oftalmologiji, Klinička bolnica "Sveti Duh", Zagreb, Hrvatska

²Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

³Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

⁴Suradni centar Svjetske zdravstvene organizacije za dječju oftalmologiju, CRO-16

⁵Hrvatsko katoličko sveučilište, Medicinski fakultet, Zagreb, Hrvatska

Podešavanje refrakcije: Kliničari s refraktivnim greškama mogu test izvoditi i bez nošenja vlastite korekcije podešavanjem vrijednosti svoje korekcije na oftalmoskopu kako bi postigli jasnu sliku. Drugim riječima, potrebno je namjestiti kotačić leće oftalmoskopa sve dok slika oka bolesnika ne postane oštra.

2. Maksimiziranje veličine zjenice

Zamračeno okruženje: Provodite test u potpunom mraku kako biste omogućili fiziološko širenje zjenica.

Optimalne postavke svjetla oftalmoskopa: Prilagodite svjetlosni snop oftalmoskopa tako da koristi najmanji mogući radijus snopa.

Kapljice za midrijazu: Ako je potrebno, ukapajte kapljice za širenje zjenica kako biste poboljšali vidljivost refleksa. Preporuke za farmakološku dilataciju zjenica su: (1) djeca mlađa od 9 mjeseci: kombinacija 0,25 % ciklopentolata i 2,5 % fenilefrina oko 15 minuta prije pregleda. Atropin treba izbjegavati; (2) djeca starija od 9 mjeseci: tropikamid 1 % i/ili fenilefrin 2,5 % 15 minuta prije pregleda. U dojenčadi zjenice dobro reagiraju na midrijatike, ali su sporadični neželjeni događaji prijavljeni sa svim komercijalno dostupnim kapima, uključujući simpatomimetike (fenilefrin) i antikolinergike (tropikamid).

3. Poticanje otvaranja očiju

Tehnike odvratanja pozornosti: Osoba koja stoji neposredno iza vas neka zaokuplja pažnju djeteta igračkama ili svjetlećim predmetima, pomažući mu da prirodno usmjerava pogled prema vama.

Ritterov položaj za dojenčad: Držite dojenčad pod kutom od 45 stupnjeva, podupirući prsni koš jednom rukom, a drugom zadak, te ih lagano njišite naprijed-natrag. Ova tehnika koristi primitivni refleks, opažen kod neurološki zdrave djece do šest mjeseci starosti, kako bi se olakšalo spontano otvaranje očiju.

4. Širenje polja testa

Procjena periferne mrežnice: Iako je koaksijalno poravnanje učinkovito za procjenu crvenog refleksa, ono može previdjeti male periferne lezije. Kako iste ne bi previdjeli, RRT treba izvoditi iz različitih kutova, uključujući kose, kako bi se temeljito procijenio refleks iz nazalne i temporalne mrežnice, a ne samo refleks sa stražnjeg pola.

5. Tumačenje rezultata

Normalni refleks: Simetrični, jarko crveni refleksi u oba oka ukazuju na prozirne očne medije.

Abnormalni refleksi: Potražite asimetriju u boji, svjetlini ili veličini, kao i odsutnost refleksa, bijele reflekse ili pojavnost tamnih mrlja, što sve može ukazivati na ozbiljna stanja kao što su katarakta, strabizam, anomalije mrežnice i retinoblastom.

6. Podešavanje udaljenosti

Uvid u refraktivne greške: Povećanje radne udaljenosti na >1 m može pojačati refrakcijske razlike, čineći stanja poput anizometropije uočljivijima.

Zaključci: Test crvenog refleksa iznimno je važan test koji se lako izvodi i omogućuje rano otkrivanje oftalmoloških stanja opasnih po vid i život. Suvremeni izazovi, kao što je smanjena vidljivost crvenog refleksa zbog tehnologije "uklanjanja crvenih očiju" u digitalnim fotoaparatom, dodatno naglašavaju važnost detaljnog i pravilno izvedenog RRT-a u ordinacijama liječnika. Primjenom navedenih savjeta i trikova kliničari mogu prevladati uobičajene izazove, optimizirati izvođenje testa i osigurati pravodobno upućivanje djece s abnormalnim nalazima. Ovaj jednostavan, ali snažan test naglašava važnost temeljitog skrininga u dječjoj oftalmologiji.

Ključne riječi: DIJETE; TESTOVI VIDA; KATARAKTA; RETINOBLASTOM; AMBLIOPIJA

LITERATURA/REFERENCES

1. World Health Organization. WHO recommendations on maternal and newborn care for a positive postnatal experience. Geneva: World Health Organization; 2022.
2. American Academy of Pediatrics, Section on Ophthalmology. Red reflex examination in infants. Pediatrics. 2002;109(5):e81-. doi: 10.1542/peds.109.5.e81.
3. The Newborn Clinical Examination Handbook. Available from: <https://www.hse.ie/eng/about/who/healthwell-being/our-priority-programmes/child-health-and-well-being/newborn%20exam.pdf>. Accessed Jan 10, 2025.
4. American Academy of Pediatrics, Section on Ophthalmology, American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus, American Academy of Ophthalmology, American Association of Certified Orthoptists. Red reflex examination in neonates, infants, and children. Pediatrics. 2008;122(6):1401-4. doi: 10.1542/peds.2008-1580.
5. World Health Organization. Vision and eye screening implementation handbook. Geneva: World Health Organization; 2023.
6. World Health Organization. Package of eye care interventions. Geneva: World Health Organization; 2022.

Adresa za dopisivanje:

prof. dr. sc. **Mirjana Bjeloš**, dr. med.

Klinika za očne bolesti, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za dječju oftalmologiju i strabizam, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za nasljedne mrežnične distrofije, Referentni centar Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za standardiziranu ehografiju u oftalmologiji, Klinička bolnica "Sveti Duh" Zagreb
Sveti Duh 64, 10 000 Zagreb, Hrvatska
e-mail: dr.mbjelos@gmail.com

SUMMARY

Bright eyes ahead: mastering red reflex screening

Mirjana Bjeloš, Ana Ćurić, Mladen Bušić, Biljana Kuzmanović Elabjer, Benedict Rak, Katja Rončević

Aim: The red reflex test (RRT) is a straightforward, non-invasive screening tool introduced by Brückner in 1962, primarily designed to assess non-cooperative patients. It assesses the reflection of light from the choroid through the transparent ocular media, including the cornea, aqueous humor, lens, and vitreous body. While straightforward in concept, achieving accurate and reliable results requires overcoming several practical challenges.

This review aims to provide practical guidance for clinicians to refine their technique and improve the effectiveness of the RRT for early detection of vision- and life-threatening conditions, such as retinoblastoma.

Methods: A narrative literature review was conducted to explore relevant sources on maternal and newborn care, as well as pediatric ophthalmic screening. The literature search was performed using PubMed and official WHO bulletins, during 2024, December 1-31. Studies and guidelines were selected based on their relevance to the topic. The extracted references include recommendations from WHO, national healthcare programs, and significant research articles in the field.

Results: Performing the test: The clinician should begin by positioning themselves approximately 1 meter from the patient, adjusting this distance if the child is nervous or uncooperative, and gradually moving back to the standard 1-meter position. At this distance, using a direct ophthalmoscope, both pupils are illuminated simultaneously, enabling a direct comparison of the red reflexes. When both eyes simultaneously fixate and focus on the ophthalmoscope light, the pupils constrict, the corneal light reflexes align centrally, and the red reflexes appear noticeably darker. The most frequent reason for an absent red reflex is pupil constriction. Afterward, a monocular alternating inspection should be performed at a distance of approximately 40 cm for a more thorough evaluation.

Common Problems and Solutions:

1. Sharpening the Image

Proper Positioning: Hold the ophthalmoscope close to your eye, set the lens power to “0,” and focus the patient’s pupil.

Refractive Adjustments: Clinicians with refractive errors can dial their corrective power into the ophthalmoscope to achieve a clear image, avoiding reliance on spectacles. A practical method is to look through the peephole and adjust the lens dial of the ophthalmoscope until a sharp, focused image is visible.

2. Maximizing Pupil Size

Darkened Environment: Conduct the test in complete darkness to facilitate pupil dilation.

Optimal Light Settings: Adjust the ophthalmoscope’s light beam to use the smallest possible circle of light.

Dilating Drops: If necessary, apply pupil-dilating drops to improve the visibility of the reflex. The recommendations for pharmacological pupil dilation are: (1) children younger than 9 months: a combination of 0.25 % cyclopentolate and 2.5 % phenylephrine about 15 minutes before examination. Atropine should be avoided; (2) children older than 9 months: tropicamide 1 % and/or phenylephrine 2.5 % 15 minutes before examination. In infants, pupils respond well to mydriatics, but sporadic incidents have been reported with all commercially available drops, including sympathomimetics (phenylephrine) and anticholinergics (tropicamide).

3. Encouraging Eye Opening

Distraction Techniques: Have someone positioned behind you to engage the child with toys or lights, helping to direct their gaze naturally while you perform the examination.

Ritter’s Position for Infants: Hold infants at a 45-degree angle, supporting their thorax while gently jiggling their bottom. This technique utilizes a primitive reflex, observed in neurologically healthy children up to six months of age, to facilitate spontaneous eye opening.

4. Expanding the Field of View

Peripheral Retina Assessment: While a co-axial alignment is effective for evaluating the red reflex, it may overlook small peripheral ocular pathologies. To address this, the pediatrician should perform the RRT from varying angles, incorporating oblique views to thoroughly assess the nasal and temporal retina in addition to the standard straight-on examination of the fundus.

5. Interpreting Results

Normal Reflex: Symmetrical, bright red reflexes in both eyes indicate healthy ocular media.

Abnormal Reflexes: Look for asymmetry in color, brightness, or size, as well as the absence of a reflex, white reflexes, or dark spots, all of which may indicate serious conditions such as cataracts, strabismus, retinal anomalies, and retinoblastoma.

6. Adjusting Distance

Refractive Error Insight: Increasing the distance can amplify refractive disparities, making conditions such as anisometropia more apparent.

Conclusion: The red reflex test is a vital, easy-to-perform examination that enables the early detection of vision-threatening and life-threatening ocular conditions. Modern challenges, such as the diminished visibility of the red reflex due to “red-eye remover” technology in digital cameras, underscore the importance of manual RRT. By implementing the outlined tips and tricks, clinicians can overcome common challenges, optimize their examination approach, and ensure timely referral for children with abnormal findings. This simple yet powerful test underscores the importance of vigilant screening in pediatric eye care.

Key words: CHILD; VISION TESTS; CATARACT; RETINOBLASTOMA; AMBLYOPIA

Reumatologija

Reumatology

Značaj određivanja antinuklearnih antitijela

Ana Kozmar^{1,2}

Antinuklearna antitijela su velika skupina autoantitijela koja prepoznaju raznovrsne unutarstanične autoantigene i prvenstveno su karakteristična za sistemske autoimune bolesti koje odlikuje karakterističan profil autoantitijela. Antinuklearna antitijela su također važan čimbenik dijagnostike juvenilnog idiopatskog artritisa, autoimunog hepatitisa 1 i primarnog bilijarnog kolangitisa. Testiranje na prisutnost antinuklearnih antitijela u serumu ima ponajprije ključnu ulogu u dijagnostici sistemskih autoimunih bolesti, a može biti značajno i u procjeni aktivnosti bolesti, u prognozi i diferencijalnoj dijagnozi. Zlatni standard i prva linija testova za određivanje antinuklearnih antitijela je indirektna imunofluorescencija na supstratu stanične linije humanog epidermoidnog karcinoma larinksa tip 2 (HEp-2 stanice), na koju se nastavlja dokazivanje specifičnih autoantitijela potvrdnim metodama.

Ključne riječi: ANTITIJELA, ANTINUKLEARNA; KLINIČKO-LABORATORIJSKE TEHNIKE; BOLESTI VEZIVNOG TKIVA; ARTRITIS, JUVENILNI

Autoantitijela su serološki biljezi korisni u svrhu dijagnoze, klasifikacije i fenotipizacije sistemskih i organ-specifičnih autoimunih bolesti, od kojih antinuklearna antitijela (ANA) imaju središnju ulogu (1, 2). ANA su velika skupina autoantitijela koja prepoznaju raznovrsne unutarstanične antigene u raznim staničnim odjeljcima, uključujući sastavnice jezgre, jezgrine ovojnice, citoplazmatskih organela, mitotskog aparata i citosola. Osim što ANA uključuju antitijela na ekstraktibilne nuklearne antigene (ENA) kao što su SS-A (Ro), SS-B (La), Sm, RNP, Scl-70 i Jo-1, ona obuhvaćaju i cijeli spektar klinički relevantnih autoantitijela (3). Sam naziv antinuklearna antitijela nije u potpunosti točan jer osim jezgrinih ovaj pojam se odnosi i na citoplazmatske proteine, ali je iz povijesnih razloga ostao u uporabi (2).

Od kada su prvi puta opisana 1958. godine, ANA imaju središnju ulogu u imunodijagnostici podsku-

pine sistemskih upalnih autoimunih bolesti pod nazivom bolesti vezivnog tkiva (BVT) kao što su: sistemski eritemski lupus (SLE), primarni Sjögrenov sindrom (SjS), idiopatske upalne mioopatije (IIM), sistemska skleroza (SSc), miješana bolest vezivnog tkiva (MBVT) i sindrom preklapanja, a ujedno su dio klasifikacijskih kriterija većine BVT. ANA su također i jedan od temeljnih seroloških biljega za dijagnozu organ-specifičnih autoimunih bolesti kao što su autoimuni hepatitis tipa I (AIH tip 1), primarni bilijarni kolangitis (PBC) i potvrđeni faktor rizika za razvoj uveitisa u bolesnika s juvenilnim idiopatskim artritisom (JIA) (4 - 6).

ANA METODE PROBIRA

Metodologija testiranja na prisutnost ANA se mijenjala tijekom godina, od 1948. godine kada je Hargreaves opisao fenomen LE stanica, do indirektno imunofluorescencije (IIF) na prikladnim

¹ Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb

² Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Ante Kovačića 1, 10000 Zagreb

kriostatiskim preparatima tkiva (miš, štakor, majmun) i staničnim linijama, do imunotestova na čvrstoj podlozi kao što su ELISA metoda (engl. *Enzyme linked immunosorbent assay*), fluorescentni enzimoimunotestovi (FEIA, engl. *Fluorescence enzyme immunoassay*), kemiluminescentni imunotestovi (CLIA, engl. *Chemiluminescent immunoassay*) i Luminex multiplex metoda s mikrokuglicama (2, 4).

Zlatni standard za određivanje ANA je metoda indirektna imunofluorescencije na supstratu stanične linije humanog epidermoidnog karcinoma larinksa tipa 2 (HEp-2 stanice) (2, 7). Metoda IIF na HEp-2 stanicama je u uporabi preko 60 godina i zbog svoje visoke osjetljivosti predstavlja referentnu metodu za ANA probir.

Uporabom znatno većih HEp-2 stanica u odnosu na stanice tkivnih supstrata, omogućena je detaljnija vizualizaciju autoantitijela vezanih za unutarstanične strukture, kao što je prepoznavanje autoantitijela koja reagiraju s citoplazmatskim antigenima i antigenima koji su izraženi tijekom stanične diobe (7).

Prednost IIF na HEp-2 stanicama je mogućnost detekcije više od 100 različitih autoantitijela što je više od bilo kojeg drugog testa na čvrstoj podlozi. Princip metode je da se autoantitijelo vezano za ciljni antigen u HEp-2 stanici obilježi anti-humanim konjugatom označenim fluorokromom čime kompleks daje karakterističan obrazac fluorescencije pod fluorescentnim mikroskopom. (3, 8).

Obrazac fluorescencije na Hep-2 stanicama odražava lokalizaciju (topografsku distribuciju) ciljnih autoantigena lokaliziranih u različitim organelama i staničnim odjeljcima u različitim fazama staničnog ciklusa, pružajući neizravne dokaze koji upućuju na moguće molekularne ciljeve i povezane specifičnosti autoantitijela u uzorku. Ova značajka HEp-2 IIF metode bila je ključna u karakterizaciji niza staničnih autoantitijela, uključujući ona koja reagiraju s centromerama, jezgrinim antigenom proliferirajućih stanica (PCNA), fibrilarnom, CENP-F, mitotskim aparatom i brojnim drugim autoantigenima (9).

Postoji korelacija između ANA obrasca fluorescencije, prisutnosti određenih autoantitijela i sistemskih autoimunih bolesti. Korektna definicija obrasca je vrlo korisna zbog daljnjeg usmjeravanja

testiranja potvrdnim testom. Na primjer u slučaju nukleolarne fluorescencije koja je povezana sa sistemskom sklerozom daljnje testiranje se može provoditi imunoblot metodom koja uključuje karakteristična autoantitijela za sklerodermu.

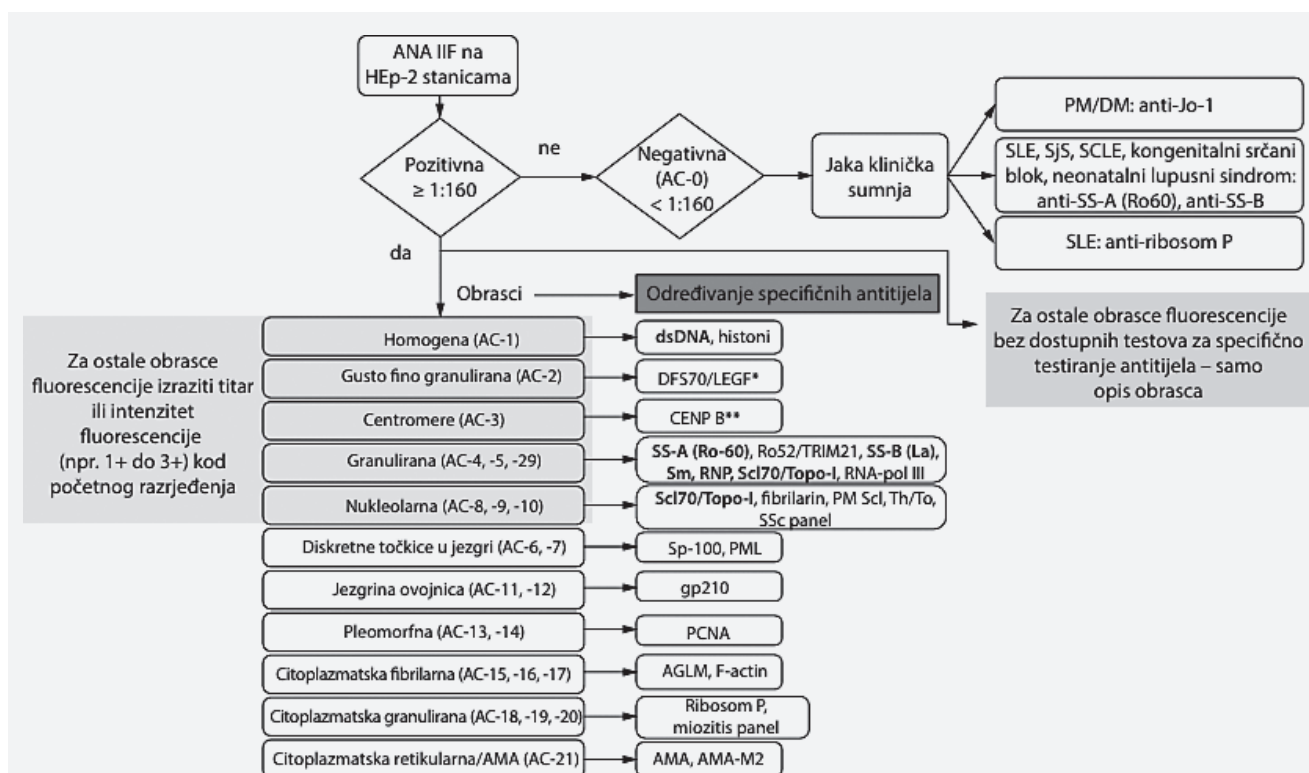
IIF na Hep-2 stanicama je metoda podložna subjektivnoj interpretaciji te se ukazala potreba za preporukama koje bi omogućile harmonizaciju izvođenja IIF i izvještavanja ANA rezultata.

Međunarodna grupa stručnjaka okupljena oko Odbora za standardizaciju autoantitijela (engl. *Autoantibody Standardization Committee*) pridružena Međunarodnim udruženjima imunoloških društava (engl. *International Union of Immunology Societies*) ustanovila je međunarodni konsenzus o obrascima fluorescencije antinuklearnih antitijela na HEp-2 stanicama (ICAP, engl. *The International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns*) 2015. godine u Brazilu (3). S ciljem postizanja harmonizacije nomenklature opisano je trideset najrelevantnijih i najzastupljenijih HEp-2 obrazaca fluorescencije, svrstanih u tri glavne skupine: fluorescencija jezgre, citoplazme i mitotskog aparata (3, 10).

Svaki obrazac fluorescencije označen je odgovarajućom AC oznakom (engl. *Anti-Cell pattern code*). Obrasci unutar svake skupine detaljno su opisani na službenoj mrežnoj stranici <https://www.anapatterns.org/>, gdje se uz sliku svakog obrasca fluorescencije navodi opis obrasca, informacija o ciljnim autoantigenima i klinički značaj. Prema ICAP preporuci fluorescencije jezgre, kao i jasni citoplazmatski i mitotski obrasci izvještavaju se kao pozitivna ANA (3, 10).

Pojedine bolesti vezivnog tkiva karakterizira određeni profil autoantitijela odnosno autoantigena, tako da se na primjer jezgrini obrasci fluorescencije poput homogene (AC-1), grubo granulirane (AC-5) ili centromera (AC-3) mogu naći isključivo u uzorcima bolesnika s BVT ili s visokim rizikom za razvoj BVT-a. Za razliku od karakterističnih BVT obrazaca, gusto fino granulirani obrazac fluorescencije (AC-2) gotovo se isključivo opaža kod zdravih osoba i pacijenata s različitim ne-BVT stanjima (11).

Sva izdanja kriterija za klasifikaciju SLE od 1997. godine su uključili prisutnost ANA i SLE specifičnih autoantitijela čime je naglašen značaj određivanja



Slika preuzeta iz: Tešija Kuna A, Đerek L, Drvar V, Kozmar A, Gugo K. Assessment of antinuclear antibodies (ANA): National recommendations on behalf of the Croatian society of medical biochemistry and laboratory medicine. Biochem Med (Zagreb). 2021;31:020502 (15).

Slika 1. Algoritam ispitivanja specifičnih antitijela za pozitivne ANA IIF uzorke ovisno o obrascu fluorescencije. Svaki obrazac označen je s odgovarajućom AC oznakom. PM/DM - Polimiozitis / dermatomiozitis. AGLM - antitijela na glatku muskulaturu. AMA - antimitohondrijska antitijela.

ANA. Pozitivna ANA IIF na HEp-2 stanicama se mogu naći u 92–99 % bolesnika sa SLE, najčešće s homogenim (AC-1), fino granuliranim (AC-4) i grubo granuliranim (AC-5) obrascima fluorescencije. Obrasci fluorescencije AMA-tip (AC-21), mnogostruke nuklearne točkice (AC-6), točkaste jezgrine ovojnice (AC-12) i centromere (AC-3) odražavaju autoantitijela povezana s PBC-om. U bolesnika s autoimunim hepatitisom tipa I nađu se uzorci fluorescencije AC-1, AC-4 i povezani s F-aktin antitijelima (AC-15) (12).

Preporučena vrsta uzorka za pretraživanje na prisutnost ANA je serum, a najčešće početno razrjeđenje u probirnom ANA IIF testu na HEp-2 stanicama je 1:80 ili 1:100. Uobičajeno se početno razrjeđenje interpretira i kao granični titar (engl. *cut-off*) ili se kao granični titar koristi 1:160, najčešće preporučen u literaturi. Za granični titar kod ANA probira u dječjoj populaciji (<16 godina) nema preporuka, osim za klasifikaciju ranog razvoja ANA-pozitivnog JIA, gdje granični titar $\geq 1:160$ predstavlja pozitivna ANA (6, 13, 14).

Uzorak pozitivan na probiru ANA IIF metodom dodatno se razrjeđuje do najvišeg titra kod kojeg je još vidljiva fluorescencija ili barem do klinički značajnog titra od 1:640.

ALGORITAM TESTIRANJA

Pozitivan nalaz ANA probirnog testa trebao bi biti praćen analizom antigen specifičnih antitijela, ovisno o obrascu fluorescencije. Algoritam ispitivanja specifičnih antitijela u slučaju pozitivnih ANA IIF na HEp-2 stanicama prikazan je na slici 1. Refleksno testiranje gdje se na prvu liniju testova (ANA IIF) automatski nastavlja testiranje na specifična antitijela omogućuje unaprjeđenje efikasnosti laboratorijske dijagnostike BVT uz istovremeno skraćivanje vremena do postavljanja dijagnoze. Za bolesti vezivnog tkiva testiranje se provodi na specifična autoantitijela koja su relevantna u smislu kliničke dijagnoze, kategorizacije podsindroma, prognoze, terapijskog praćenja ili razvoja preklapajućih sindroma kao što su anti-

Tablica 1. Klinički najrelevantnija autoantitijela u bolestima vezivnog tkiva

Autoantitijelo	Učestalost u različitim bolestima vezivnog tkiva	Klinički značaj
anti-dsDNA	>95% u aktivnom SLE sa zahvaćenošću bubrega 50 – 70% u aktivnom SLE bez zahvaćenošću bubrega	ACR i SLICC klasifikacijski kriterij za SLE Prognostički biljeg za SLE (biljeg zahvaćenošću bubrega, aktivnosti bolesti, primjena u praćenju terapije)
anti-SS-A (Ro60)	60 – 96% u primarnom SjS 40 – 60% u sekundarnom SjS 25 – 60% SLE 60 – 100% SCLE 90% NLE	ACR/EULAR klasifikacijski kriterij za primarni SjS Povezana s izvanžljezdanim manifestacijama, Nalaze se u majki djece s NLE
anti-Ro52/TRIM21	17 – 63% SjS 23% SLE 20% SSc 30% bolesnika s antisintetaza sindromom (u do 72% bolesnika s pozitivnim anti-Jo-1) Kod ne-BVT bolesti (28% PBC, 17% AIH)	Nalazi se u raznim autoimunim bolestima
anti-SS-B (La)	40 – 70% u primarnom SjS 5 – 50% u sekundarnom SjS 19 – 30% u SLE 25 – 80% u SCLE 70% NLE	Obično su prisutna uz SS-A antitijela Usporedna pojavnost sa SS-A antitijelima obično korelira s rjeđim bubrežnim manifestacijama
anti-Sm	5 – 10% SLE	ACR i SLICC klasifikacijski kriterij za SLE Visoka specifičnost za SLE
anti-RNP	100% MBVT 13 – 32% SLE	Serološki biljeg MBVT (kad su prisutna u visokom titru)
anti-Topo I/Scl70	65% u difuznoj SSc	ACR/EULAR klasifikacijski kriterij za SSc Povezana s brže progredirajućim sistemskim oblikom SSc
anti-CENP B	57 – 82% bolesnika s CREST sindromom 3 – 12% bolesnika s difuznim kožnim oblikom SSc	ACR/EULAR klasifikacijski kriterij za SSc Povezana sa sporo razvijajućim ograničenim kožnim oblikom SSc (CREST sindrom)
anti-RNA-pol III	3 – 19% SSc	ACR/EULAR klasifikacijski kriterij za SSc Povezana s difuznim kožnim manifestacijama i bubrežnom krizom
anti-Jo-1	24 – 30% IIM	ACR/EULAR klasifikacijski kriterij za odrasle i juvenilne IIM Povezana s intersticijskom plućnom fibrozom
anti-PM/Scl	24 – 55% poliomiozitis/skleroderma preklapajući sindrom 8 – 12% IIM 1 – 16% SSc	Dijagnostički biljeg za poliomiozitis/skleroderma preklapajući sindrom
anti-PCNA	3% SLE	Donedavno su se smatrala vrlo specifičnim za SLE
anti-ribosom P	10 – 35% SLE	Visoka specifičnost za SLE
anti-histoni	92 – 95% lupusa uzrokovanog lijekovima 50 – 80% SLE	Visoka specifičnost za lupus uzrokovan lijekovima
anti-nukleosomi	56 – 90% SLE	Visoka specifičnost za SLE

ACR – American College of Rheumatology. SLICC – Systemic Lupus International Collaborating Clinics. EULAR – European League Against Rheumatism. SCLE – Subakutni kožni eritemski lupus. NLE – Neonatalni eritemski lupus. CHB – Kongenitalni srčani blok. Tablica preuzeta iz: Tešija Kuna A, Đerek L, Drvar V, Kozmar A, Gugo K. Assessment of antinuclear antibodies (ANA): National recommendations on behalf of the Croatian society of medical biochemistry and laboratory medicine. *Biochem Med (Zagreb)*. 2021;31:020502 (15).

tijela na klasične ENA antigene, dsDNA i centromere (Tablica 1) (15).

Određivanje ANA specifičnih antitijela provodi se metodama na čvrstoj podlozi koje odlikuje visoka analitička specifičnost i osjetljivost poput CLIA, ELISA, FEIA, LIA i ALBIA. Potvrdnim metodama moguće je odrediti pojedinačna autoantitijela ili

istodobnu detekciju svih dijagnostički važnih autoantigena za pojedinu skupinu autoimunih bolesti (LIA, Luminex).

U slučaju negativnog ANA IIF nalaza (AC-0) nije potrebno određivanje specifičnih antitijela. Međutim zbog niske osjetljivosti ANA IIF za neka specifična autoantitijela (anti-SSA, anti-Ro52,

anti-Jo-1, anti-ribosom P protein), kod negativnog ANA IIF nalaza, specifično testiranje treba provesti u slučaju jake kliničke sumnje na pojedine dijagnoze (anti-Jo-1 u slučaju PM/DM; anti SS-A (Ro60, Ro52) u slučaju SjS, kongenitalnog srčanog bloka ili neonatalnog lupusa; antitijela na ribosom P protein u slučaju SLE) (15, 16).

Laboratorijski nalaz za ANA sadrži opis obrasca IIF prema ICAP nomenklaturi, titar autoantitijela, i specifikaciju ciljnih autoantigena uz navedene korištene metode.

INDIKACIJE ZA ANA TESTIRANJE

Testiranje na ANA preporučuje se samo u bolesnika sa simptomima vezanim uz autoimune reumatske bolesti, autoimune bolesti jetre (AIH, PBC) i u praćenju bolesnika s JIA. Razlog tome je što slaba ANA reaktivnost može biti prisutna u mnogim bolestima koje nemaju autoimunu podlogu (virusne infekcije, bolesti jetre, sindrom kroničnog umora, razni karcinomi) kao i u zdravih osoba (osobito trudnica i starijih osoba) (17). ANA se mogu naći u niskom titru od 1:40 u 20-30 % zdravih ispitanika i u 5 % u titru 1:160, bez ikakvog kliničkog značaja (18). Prisutnost ANA u visokom titru i postojanost tijekom vremena je karakteristično za većinu BVT. Stoga je predodabir bolesnika vrlo važan za smanjenje broja lažno pozitivnih rezultata i otkrivanje autoantitijela iz logičnog kliničkog konteksta (15).

ANA probirni test se koristi primarno u dijagnostičke svrhe. S obzirom na to da promjena ANA titra ne prati aktivnost bolesti ili odgovor na terapiju serijsko praćenje titra nije opravdano (2, 19). Iznimka je određivanje koncentracije ds-DNA antitijela koja korelira s aktivnošću bolesti i prediktor je aktivacije SLE (20). U slučaju negativnog ili slabo pozitivnog nalaza ponavljanje ANA je korisno samo u bolesnika s perzistirajućim i pogoršanim kliničkim simptomima BVT. Ponavljanje testiranja pozitivnog nalaza ANA testa u bolesnika s klinički definiranim BVT je nepotrebno, osim u slučaju sumnje u promjenu fenotipa bolesti ili preklapanja autoimunih bolesti (18, 21).

ZAKLJUČAK

Određivanje antinuklearnih antitijela je ključna dijagnostička metoda u prepoznavanju autoimunih

bolesti. Iako ANA testiranje ne može samo po sebi potvrditi dijagnozu, ono je od velike važnosti u usmjeravanju dijagnoze, praćenju aktivnosti bolesti i prepoznavanju specifičnih oblika autoimunih bolesti. Pravilna interpretacija rezultata ANA testiranja, u kontekstu kliničke slike pacijenta, neophodna je za precizno postavljanje dijagnoze i učinkovito liječenje.

Dijagnostika autoimunih bolesti je vrlo kompleksna, dijagnoza je uvijek rezultat sinergije između klinike i laboratorija. Pretraživanje na prisutnost ANA treba provoditi selektivno, samo kada postoji jaka sumnja na prisutnost sistemske autoimune bolesti. Kada je mala vjerojatnost autoimune bolesti, većina pozitivnih rezultata niskog titra predstavlja lažno pozitivne rezultate ili su povezani sa starijom dobi pacijenata. Racionalni pristup laboratorijskoj dijagnostici doprinosi boljem iskorištenju sredstava, bržoj dijagnozi, pravovremenom uvođenju terapije i preciznijoj procjeni aktivnosti bolesti.

Kratice:

AC	- Anti-Cell
ACR	- American College of Rheumatology.
AGLM	- antitijela na glatku muskulaturu.
AIH tip 1	- autoimuni hepatitis tipa I
AMA	- antimitohondrijska antitijela
ANA	- antinuklearna antitijela
BVT	- bolesti vezivnog tkiva
CHB	- kongenitalni srčani blok
CLIA	- kemiluminescentni imunotest
ELISA	- enzimimunotest
ENA	- ekstraktibilni nuklearni antigeni
EULAR	- European League Against Rheumatism
FEIA	- fluorescentni enzimimunotest
HEp-2	- stanična linija humanog epidermoidnog karcinoma larinksa tipa 2
ICAP	- International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns
IIF	- indirektna imunofluorescencija
IIM	- idiopatske upalne mioopatije
JIA	- juvenilnim idiopatski artritis
MBVT	- miješana bolest vezivnog tkiva
NLE	- neonatalni eritemski lupus
PBC	- primarni bilijarni kolangitis
PCNA	- jezgrin antigen proliferirajućih stanica
PM/DM	- polimiozitis / dermatomiozitis
SCLE	- subakutni kožni eritemski lupus

SjS – primarni Sjögrenov sindrom
 SLE – sistemski eritemski lupus
 SLICC – Systemic Lupus International Collaborating Clinics
 SSc – sistemska skleroza

LITERATURA

- Sciascia S, Bizzaro N, Meroni PL, et al. Autoantibodies testing in autoimmunity: Diagnostic, prognostic and classification value. *Autoimmun Rev.* 2023;22:103356. doi: 10.1016/j.autrev.2023.103356.
- Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis.* 2014;73:17-23. doi:10.1136/annrheumdis-2013-203863.
- Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, et al. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014–2015. *Front Immunol.* 2015;6:412. doi: 10.3389/fimmu.2015.00412.
- Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16:715-726. doi:10.1038/s41584-020-00523-z.
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: The diagnosis and management of patients with primary biliary cholangitis. *J Hepatol.* 2017;67:145-172. doi:10.1016/j.jhep.2017.03.022.
- Martini A, Ravelli A, Avcin T, et al. Toward new classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: First steps, Pediatric Rheumatology International Trials Organization international consensus. *J Rheumatol.* 2019;46:190-197. doi:10.3899/jrheum.180168.
- Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:1420-1422. doi:10.1136/ard.2009.127100.
- Mahler M, Meroni PL, Bossuyt X, Fritzler MJ. Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *J Immunol Res.* 2014;2014:315179. doi: 10.1155/2014/315179.
- Andrade LEC, Klotz W, Herold M, et al. Reflecting on a decade of the international consensus on ANA patterns (ICAP): Accomplishments and challenges from the perspective of the 7th ICAP workshop. *Autoimmun Rev.* 2024;23:103608. doi:10.1016/j.autrev.2024.103608.
- International consensus on ANA patterns (ICAP). 2021 [accessed 2025 January 10]. Available from: <https://www.anapatterns.org/trees-2021.php>
- Bonroy C, Vercammen M, Fierz W, et al. Detection of anti-nuclear antibodies: Recommendations from EFLM, EASI and ICAP. *Clin Chem Lab Med.* 2023;61:1167-1198. doi: 10.1515/cclm-2023-0456.
- Andrade LEC, Damoiseaux J, Vergani D, Fritzler MJ. Antinuclear antibodies (ANA) as a criterion for classification and diagnosis of systemic autoimmune diseases. *J Transl Autoimmun.* 2022;5:100145. doi:10.1016/j.jtauto.2022.100145.
- Storwick JA, Brett AC, Buhler K, et al. Prevalence and titres of antinuclear antibodies in juvenile idiopathic arthritis: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev.* 2022;21:103086. doi:10.1016/j.autrev.2022.103086.
- Aksu G, Gulez N, Azarsiz E, et al. Determination of cut-off titers and agreement between immunofluorescence and immunoblotting methods for detecting antinuclear antibodies in children. *J Clin Lab Anal.* 2010;24:230-236. doi:10.1002/jcla.20390.
- Tešija Kuna A, Đerek L, Drvar V, et al. Assessment of antinuclear antibodies (ANA): National recommendations on behalf of the Croatian society of medical biochemistry and laboratory medicine. *Biochem Med (Zagreb).* 2021;31:020502. doi:10.11613/BM.2021.020502.
- Hoffman IEA, Peene I, Veys EM, De Keyser F. Detection of specific antinuclear reactivities in patients with negative anti-nuclear antibody immunofluorescence screening tests. *Clin Chem.* 2002;48:2171-6. doi:10.1093/clinchem/48.12.2171
- Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1725-34. doi:10.1002/art.1780400928
- Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol.* 2002;117:316-24. doi:10.1309/5N1M-595L-8X9Y-3X9F
- Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124:71-81. doi: 10.5858/2000-124-0071-GFCUOT
- Pisetsky DS. Anti-DNA antibodies – quintessential biomarkers of SLE. *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12:102-10. doi:10.1038/nrrheum.2015.151
- Tonutti E, Bizzaro N, Morozzi G, et al. The ANA-reflex test as a model for improving clinical appropriateness in autoimmune diagnostics. *Auto Immun Highlights.* 2016;7:9. doi:10.1007/s13317-016-0080-0

Adresa za dopisivanje:

Doc. dr. sc. **Ana Kozmar**, mag. med. biochem.
 Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku,
 KBC Zagreb
 Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb
 e-mail: akozmar@kbc-zagreb.hr

S U M M A R Y

The importance of determining antinuclear antibodies

Ana Kozmar

Antinuclear antibodies are a large group of autoantibodies directed against various intracellular autoantigens and are primarily associated with systemic autoimmune diseases characterized by a specific autoantibody profile. Antinuclear antibodies are also an important factor in the diagnosis of juvenile idiopathic arthritis, autoimmune hepatitis 1, and primary biliary cholangitis.

Detection of antinuclear antibodies in serum facilitates the diagnosis of systemic autoimmune diseases and may be important in assessing disease activity, prognosis, and differential diagnosis.

The gold standard and the first-line test for the detection of antinuclear antibodies is indirect immunofluorescence using HEp-2 cells (human laryngeal epidermoid carcinoma cell line type 2) substrate, followed by detection of specific autoantibodies by confirmatory methods.

Key words: ANTIBODIES, ANTINUCLEAR; CLINICAL LABORATORY TECHNIQUES;
CONNECTIVE TISSUE DISEASES; ARTHRITIS, JUVENILE

Novosti u juvenilnom idiopatskom artritisu – što pedijatar treba znati

Marijan Frković^{1,2}, Marija Jelušić^{1,2}

Cilj: Rad donosi pregled novih spoznaja o etiopatogenezi, klasifikaciji i liječenju juvenilnog idiopatskog artritisa (JIA).

Metode: Sistematičan pregled recentne literature.

Rezultati: JIA je jedna od najčešćih kroničnih bolesti u djece. Nove spoznaje o etiologiji i patogenezi bolesti dovele su do razvoja i primjene novih lijekova – bioloških lijekova i inhibitora Janus kinaza (JAK), koji su iznimno poboljšali očekivane ishode liječenja u velikog broja, ali ne i svih bolesnika. Kako do sada važeća klasifikacija bolesti, koja JIA dijeli na 7 tipova prema inicijalnim kliničkim obilježjima bolesti, više ne prati suvremene znanstvene spoznaje i ograničava registraciju novih lijekova, u izradi je nova klasifikacija bolesti, prema kojoj tipovi bolesti primarno uvažavaju genetske i imunološke osobitosti bolesnika. Ista bi trebala dovesti do brže implementacije terapijskih opcija sljedeće generacije.

Zaključak: Nove spoznaje o etiopatogenezi JIA dovele su do razvoja novih lijekova i poboljšale ishode liječenja. Uz to potakle su razvoj nove klasifikacije bolesti čiji primarni cilj je olakšavanje razvoja i registracije lijekova sljedeće generacije, koji pak predstavljaju korak prema konačnom cilju, trajnoj stabilnoj remisiji u svih bolesnika s JIA.

Ključne riječi: ARTRITIS, JUVENILNI; KLASIFIKACIJA; TERAPIJA

UVOD

Juvenilni idiopatski artritis (JIA) obuhvaća heterogenu skupinu kroničnih artritisa, još uvijek nepotpuno razjašnjene etiologije. Simptomi bolesti započinju prije navršene 16. godine života i traju najmanje 6 tjedana (1, 2). Upalni proces osim zglobova može zahvatiti oči, kožu i druge organe te dovesti do invaliditeta, a u iznimnim slučajevima i do smrtnog ishoda (2, 3). S obzirom na razlike u kliničkoj prezentaciji JIA se dijeli u različite tipove (4, 5).

Nove spoznaje o etiopatogenezi bolesti pomogle su u razjašnjavanju različite inicijalne simptomatologije i kliničkog tijeka bolesti te dovele do zna-

čajnog napretka u razvoju novih terapijskih opcija: bioloških lijekova i JAK inhibitora (1, 6, 7). Uz to potaknule su izradu i validiranje nove klasifikacije bolesti u kojoj će kategorije JIA biti redefinirane, a s ciljem daljnjeg ubrzavanja razvoja i registracije lijekova sljedeće generacije. Time se težište skrbi nastavlja pomicati prema ranom, specifičnom i individualiziranom liječenju koje će omogućiti postizanje stabilne, dugotrajne remisije u svih bolesnika s JIA (1, 8, 9).

¹ Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata 3, 10000 Zagreb

² Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb

Tablica 1. Usporedba ILAR i PRINTO klasifikacije JIA

Klasifikacija	ILAR	PRINTO
Dob početka bolesti	< 16 godina	< 18 godina
Kategorija	- sJIA - ERA - pJIA RF+ - pJIA RF- - oJIA - jPsA - nediferencirani artritis	- sJIA - pJIA RF+ - entezitis/spondilitis - ANA+ JIA s ranim početkom - ostali JIA
Kategorija temeljena na	Kliničke manifestacije u prvih 6 mjeseci bolesti	Kliničke manifestacije i rutinski laboratorijski nalazi
sJIA	Artritis barem 1 zgloba	Artritis nije obvezni kriterij
Broj zahvaćenih zglobova	Oligoartritis (1-4 zglobova); Poliartritis (5 i više zglobova)	Više nije klasifikacijski kriterij
Nediferencirani JIA/ostali artritis	Neklasificirani ili preklapanje kriterija između 2 ili više kategorija	Bez preklapanja kriterija
Specifičnost za dječju dob		ANA+ JIA s ranim početkom

ILAR – Međunarodna liga reumatoloških udruženja (ILAR, engl. *International League of Association For Rheumatology*); PRINTO – Međunarodna organizacija za istraživanja u pedijatrijskoj reumatologiji (PRINTO, engl. *Paediatric Rheumatology INternational Trials Organisation*); JIA – juvenilni idiopatski artritis; sJIA – sistemski JIA; ERA – entezitis pridružen artritisu; pJIA – poliartritis; oJIA – oligoartritis; RF – reuma faktor; ANA – antinuklearna protutijela; jPsA – juvenilni psorijatični artritis

KLASIFIKACIJE JIA

Međunarodna liga reumatoloških udruženja (ILAR, engl. *International League of Association For Rheumatology*) 1997. godine preporučila je klasifikaciju JIA koja se koristi još i danas. Klasifikacijom, koja je razvijena kao pomoć u osmišljavanju kliničkih ispitivanja, su definirani tipovi JIA grupiranjem elemenata prezentacije bolesti, kliničkog tijeka i prognoze, pri čemu kriteriji za dijagnozu pojedinog tipa uključuju kliničke i laboratorijske nalaze koji pomažu u odabiru primjerene terapije. Prema obilježjima koja su prisutna tijekom prvih šest mjeseci bolesti definirano je sedam tipova JIA: sistemski (sJIA), oligoartritis (oJIA), poliartritis s pozitivnim nalazom reuma faktora (pJIA RF+), poliartritis s negativnim nalazom RF (pJIA RF-), psorijatični (jPsA), entezitis pridružen artritisu (ERA, engl. *enthesitis-related arthritis*) te skupina nediferenciranih artritisa (3, 5).

Rezultati istraživanja etiopatogeneze JIA zadnjih nekoliko godina ukazuju na nužnost izrade nove klasifikacije, koja stratificira bolesnike na drugačijim temeljima (1,10,11). Od 2011. godine predlaže se formiranje posebne kategorije bolesnika s pozitivnim nalazom antinuklearnih protutijela (ANA, engl. *antinuclear antibodies*), koja uključuje bolesnike s ranim početkom bolesti uz dominaciju ženskog spola, razvoj asimetričnog artritisa i povećan rizik razvoja kroničnog uveitisa. Trenutačno su navedeni bolesnici podijeljeni između oJIA,

pJIA RF- i jPsA tipa bolesti (12). Uz navedeni novi tip, prema prijedlogu Međunarodne organizacije za istraživanja u pedijatrijskoj reumatologiji (PRINTO, engl. *Paediatric Rheumatology INternational Trials Organisation*), prema novoj klasifikaciji JIA se dijeli još na sJIA, pJIA RF+, entezitis/JIA povezan sa spondilitisom te nediferencirane artritis (Tablica 1). Nova klasifikacija, prije početka upotrebe u svakodnevnoj praksi, zahtjeva konačno usuglašavanje ekspertnih mišljenja te validaciju na velikom broju bolesnika (13).

EPIDEMIOLOGIJA

JIA je najčešća je reumatska bolest te ujedno i jedna od najčešćih kroničnih bolesti dječje dobi. Dva puta se češća javlja u djece i mladih osoba ženskog spola. Incidencija i prevalencija variraju između tipova bolesti i među istraživanim populacijama, generalno vrh incidencije je između prve i treće godine života, a prevalencija iznosi oko 1 na 1000 (14). U Europi stope incidencije iznose od 1,6 do 23, a prevalencija od 3,8 do 400/100 000. U SAD-u incidencija iznosi više od 14, a prevalencija oko 96/100 000 (15).

ETIOLOGIJA

Heterogenost tipova JIA otežava istraživanje etiologije i patogeneze bolesti.

Genetska predispozicija za razvoj većine tipova JIA (uz iznimku sJIA) vezana je uz HLA lokuse klase II

(A2, DRB1, DPB1), što ukazuje na vodeću ulogu mehanizama stečene imunosti u patogenezi bolesti (16,17). oJIA povezan je s lokusima A2, DRB1*11, DRB1*08, DPB1*02, DRB1*13, DRB1*15*01 i DRB1*01, pJIA RF- s DPB1:03 i DRB1:08, a pJIA RF+ s DRB1*04 i DRB1*01 [23]. HLA-B27 lokus povezan je s rizikom razvoja kasnog podtipa jPsA te ERA. Vjerojatnost razvoja ERA dodatno povećavaju lokusi DRB1*01, DQA1*01 i DQB1*05 (18). Izvan HLA sustava vjerojatnost razvoja JIA povezana je s pojedinim varijantama gena (posebno u međugenskoj regiji kromosoma 1) koji kodiraju različite proupalne i protuupalne te druge signalne molekule (17, 19). Na specifičnu, drugačiju patogenezu sJIA ukazuje više od 20 genskih lokusa čije varijante se ne povezuju s razvojem ostalih tipova JIA (20).

Kao mogući okolišni čimbenici/okidači patogenetskog zbivanja u JIA do sada su proučavane infekcije različitim virusima i bakterijama, gubitak raznolikosti crijevnog mikrobioma uslijed infekcija i ekspozicije antibioticima (posebno u ERA), nedostatak vitamina D, primjena cjepiva te intrauterina ekspozicija sastojcima duhanskog dima (21, 22).

PATOGENEZA

Podtipovi JIA imaju multifaktorijalnu i različitu patogenezu. Još uvijek nije u potpunosti razjašnjen način kojim kombinacija faktora okoliša i genetske predispozicije dovodi do poremećaja ravnoteže između regulatornih i efektorskih imunskih stanica, promjena u lučenju pro- i protu-upalnih citokina te sintezi autoprotutijela u patogenezi JIA.

Pokretanje patofiziološke kaskade JIA uključuje poremećaj aktivacije T-stanica, B-stanica, stanica prirodnih ubojica (NK), dendritičkih stanica (DC), makrofaga i neutrofila te proizvodnju proupalnih medijatora koji dovode do oštećenja zglobova uz sistemске komplikacije. Oligoartikularni i pJIA karakterizirani su autoreaktivnim antigen-specifičnim T-stanicama i stvaranjem autoprotutijela. Upala nastaje kao posljedica poremećene ravnoteže između proupalnih Th1/Th17 i protuupalnih regulatornih T-stanica (Treg). Th17 stanice proizvode proupalni citokin IL17, koji inducira proizvodnju signalnih molekula u sinoviocitima, koje privlače neutrofile uz upalnu destrukcijom zglobova (19, 23).

Patogenezu ERA pokreće HLA-B27 posredovana prezentacija artritogenog peptida koju slijedi aktivacija T-stanica i lučenje IL23 i IL17. Entezitis je potaknut opetovanim biomehaničkim stresom uz posljedično otpuštanje različitih molekularnih komponenti iz oštećenog vezivnog tkiva koje aktiviraju sinovijalne makrofage i stromalne stanice, koje pak putem IL23 uspostavljaju pozitivnu povratnu spregu. Patogeneza psorijatičnog JIA s kasnim početkom nalikuje ERA s entezitisom, dok u psorijatičnom JIA s ranim početkom dominiraju mehanizmi prirodne imunosti uz razvoj daktilitisa kao dominantne kliničke manifestacije (24). sJIA se smatra dominantno autoinflamatornom bolešću (19). Nekontrolirana aktivacija prirodnih mehanizama imunosti rezultira aktivacijom monocita/makrofaga, neutrofila i mijelomonocitnih prekursora, te povećanom produkcijom proupalnih citokina (19, 25). Sindrom aktivacije makrofaga (MAS, engl. *macrophage activation syndrome*) kao komplikacija sJIA, uzrokovan je nekontroliranim umnožavanjem citotoksičnih CD8+ T-stanica koje putem proupalnih citokina dovode do aktivacije hemofagocita - makrofaga koji infiltriraju koštanu srž i ostale organe, posebice jetru i slezenu (26).

U plazmi i sinovijalnoj tekućini bolesnika s JIA detektiran je porast koncentracija proupalnih citokina. Najnovija istraživanja sugeriraju da bi obrasci lučenja pojedinih citokina mogli biti parametar korišten za točnu klasifikaciju pojedinih tipova JIA u ranim fazama razvoja bolesti uz posljedični raniji početak specifičnog liječenja te u konačnici i povoljnije ishode (27).

Među serološkim biomarkerima/autoprotutijelima u bolesnika s JIA izdvajaju se ANA, RF i anti-ciklički citrulinirani peptid (anti-CCP). Pozitivan nalaz ANA (u niskom titru) vezan je uz dio bolesnika s oJIA, pJIA, RF- i jPsA te ukazuje na povećani rizik razvoja kroničnog uveitisa. RF je protutijelo usmjereno na Fc fragment IgG. Detektira se u maloj podskupini bolesnika s pJIA (5 % bolesnika s JIA), a pozitivan nalaz povezan je s lošijom prognozom. Anti-CCP aktivira sustav komplemenata i makrofage uz induciranje proizvodnje TNFa. Bolesnici s dvostruko pozitivnim nalazom - anti-CCP i RF imaju više razine proupalnih citokina i izraženije upalne promjene (28, 29).

TIPOVI JIA

Među svim simptomima upale jednog ili više zglobova u sklopu JIA posebno se ističe jutarnja ukočenosti i njezino trajanje (> 15 minuta). Osjećaj ukočenosti javlja se i nakon svakog dužeg mirovanja, ali je tada slabije izražen. Drugi simptom po učestalosti je oteklina upalom zahvaćenog perifernog zgloba, dok ostali simptomi mogu, ali i ne moraju biti prisutni.

Dominantno na temelju broja i obrascu zahvaćenosti zglobova, pacijenti su klasificiraju u jednu od 7 ILAR kategorija (5).

oJIA

Prema definiciji ovaj tip bolesti manifestira se znakovima upale jednog do četiri zgloba tijekom prvih 6 mjeseci od početka bolesti, a nakon navedenog perioda se dijeli u dva podtipa: perzistentni, kod kojeg bolest i dalje ostaje ograničena na 1-4 zgloba (većina bolesnika) te prošireni tip, u kojeg se nakon inicijalnih 6 mjeseci bolest širi na 5 ili više zglobova. Prošireni oJIA ima lošiju prognozu, sličan je poliartikularnom tipu bolesti, ali uz asimetrično zahvaćanje zglobova. oJIA se javlja u do 50 % svih oboljelih, s vrhom incidencije između prve i treće godine života, do 3-5 puta češće u djevojčica, a 30 do 60 % djece ima pozitivan nalaz ANA u niskom titru. Upalom su u pravilu zahvaćeni veliki zglobovi u asimetričnom rasporedu, češće donjih ekstremiteta. Rijetko su zahvaćeni kukovi i ramena, obično nema zahvaćenosti vratne i drugih segmenata kralježnice. Kronični uveitis razvija 20-30 % bolesnika, među njima u najvećem riziku su djevojčice s pozitivnim nalazim ANA. Dijagnoza uveitisa, koji je inicijalno u pravilu asimptomatski, postavlja se najčešće istovremeno s postavljanjem dijagnoze artritisa, iako može prethoditi zglobnim manifestacijama bolesti ili se razviti mjesecima i godinama nakon postavljanja dijagnoze JIA (14, 30).

pJIA, RF-

Ovaj tip bolesti tijekom prvih 6 mjeseci od početka razvoja simptoma zahvaća 5 ili više zglobova, uz negativan nalaz RF. Javlja se u 20 % bolesnika s JIA, do 3 puta češće u djevojčica, dominantno u starije predškolske i mlađe školske dobi. Klinički

artritis je simetričan, u početku zahvaća velike zglobove (najčešće koljena, gležnjeve, ručne zglobove i/ili laktove), a u daljnjem tijeku se širi i na male zglobove šaka i stopala te moguće i temporomandibularne (TM) zglobove. ANA su pozitivna u do 40 % djece s navedenim tipom bolesti, uz posljedično veći rizik razvoja kroničnog uveitisa (14, 31).

pJIA RF+

Isto kao i prethodni tip bolesti, tijekom prvih 6 mjeseci od početka razvoja simptoma zahvaća 5 ili više zglobova, ali uz pozitivan nalaz RF. Među oboljelim (5 % svih oboljelih) dominiraju djevojčice starije školske ili adolescentske dobi (Ž:M = 10:1). Više od 50 % oboljelih u nalazu HLA tipizacije ima pozitivan nalaz DR4, koji dodatno pogoršava prognozu u smislu kroniciteta bolesti s trajanjem i u odrasloj dobi. U ovom tipu dio bolesnika ima i pozitivan nalaz anti CCP, uobičajena u bolesnika s reumatoidnim artritisom (RA). Klinički se bolest manifestira razvojem simetričnog artritisa koji zahvaća male zglobove šaka i stopala uz moguće paralelno ili naknadno zahvaćanje i velikih zglobova, dominantno donjih ekstremiteta, posebno kuka (do 50 % oboljelih). Na samom početku bolesti ili tijekom egzacerbacija moguć je razvoj i sistemskih simptoma: febriliteta, hepatosplenomegalije i limfadenopatije dok su perikarditis, pleuritis i kronični uveitis rijetki (14, 31).

ENTEZITIS POVEZAN S ARTRITISOM (ERA/jSpA)

Tip JIA poznat i kao juvenilni spondiloartritis, javlja se u 5-10 % oboljelih među kojima dominiraju dječaci (M:Ž = 1,4-7:1), stariji od 6 godina. Obuhvaća dva podtipa: nediferencirani spondiloartritis i juvenilni ankilozantni spondilitis. Prema ILAR-ovim kriterijima ERA podrazumijeva istodobne simptome artritisa i entezitisa. U slučaju samo jedne ili druge komponente bolesti, za potvrdu dijagnoze nužan je barem još jedan od sljedećih kriterija: bol u lumbosakralnoj regiji i/ili sakroilijakalnim zglobovima, nalaz HLA-B27, HLA B27 vezane bolesti (artritis, uveitis (akutni), upalna bolest crijeva) u srodnika prvog ili drugog stupnja, akutni prednji uveitis (3-7 % bolesnika) ili početak artritisa u dječaka prije navršene 8. godine života. Klinički bolest se najčešće inicijalno prezentira povremenim

bolovima u donjem dijelu leđa i/ili jutarnjom ukočenošću koja regredira razgibavanjem/aktivnošću ili asimetričnim artritisom velikih zglobova donjih ekstremiteta uz entezitis, najčešće u području hvatišta tetiva na stopalu. Rjeđe artritis zahvaća zglobove gornjih ekstremiteta, najčešće ramena (14, 32).

jPsA

U djece se jPsA javlja znatno rjeđe nego psorijatični artritis u odraslih, približno 5 - 10 % bolesnika s JIA boluje od ovog tipa bolesti. Na njega uz artritis ukazuje i istovremena psorijaza, a u slučaju izostanka tipičnih kožnih promjena nužna je prisutnost barem dvaju od sljedećih znakova: daktilitis, psorijatične promjene na noktima (hiperkeratoza, točkaste erozije i/ili uzdužne brazde, gubitak boje distalnog dijela noktiju) ili pozitivna anamneza u smislu psorijaze u srodnika prvog stupnja.

Psorijatični tip JIA se dijeli u dva podtipa: rano nastali oligoartritis s pozitivnim nalazom ANA (početak u predškolskoj dobi, dominantno u djevojčica, najčešće se inicijalno prezentira kombinacijom daktilitisa i asimetričnog artritisa malih zglobova zahvaćenih prstiju, brzo širenje bolesti, kronični uveitis u do 15 % slučajeva) te kasno nastali podtip koji klinički odgovara ERA-i (kasnije djetinjstvo, podjednaka učestalost u djevojčica i dječaka, entezitis sa zahvaćanjem zglobova kralježnice, po kliničkoj slici nalikuje psorijatičnom artritisu odrasle dobi) (14, 33).

sJIA

Javlja se u 5 - 15 % bolesnika, s podjednakom učestalošću u dječaka i djevojčica i s vrhom incidencije u drugoj polovici druge godine života. Karakteriziraju ga sistemski simptomi - obvezno prisutni intermitentni, pseudoseptički febrilitet u minimalnom trajanju od 2 tjedna uz barem još jedan od ostalih simptoma: osip, serozitis, hepatosplenomegalija i limfadenopatija. Za definitivno postavljanje dijagnoze bolesnik mora razviti i artritis. Bolest se dijeli na dva podtipa: jedan koji zadovoljava ILAR kriterije (sistemski simptomi + artritis) te drugi, u kojem se uz sistemske simptome ne razvija artritis. Otprilike polovica bolesnika ima monoklički tijek te se uz adekvatno liječenje očekuje postizanje trajne remisije bez terapije ili policlički tijek s ponavljanjem sistemskih simptoma uz

blagi artritis, a druga polovica bolesnika, obično nakon smirivanja sistemskih simptoma razvija progresivni artritis. U do 8 % djece razvije se MAS kod kojeg usprkos ranom prepoznavanju i agresivnoj terapiji smrtnost iznosi oko 8 % (14, 34, 35).

NEDIFERENCIRANI ARTRITISI

U ovoj skupini dominira artritis povezan s upalnom bolesti crijeva (IBD). Razvija se u 7 do 21 % bolesnika s IBD-om, najčešće zahvaća 5 ili više zglobova uz često zahvaćanje SI zglobova i aksijalnog skeleta. Tipično, simptomi artritisa se poboljšavaju dobrom kontrolom IBD-a, dok je u manjeg broja bolesnika, zbog dominacije artikularnih simptoma, nužna agresivnija terapija prema principima liječenja ostalih tipova JIA. (14, 36).

KOMPLIKACIJE JIA

Kronični, nekontrolirani artritis dovodi do promjena u zahvaćenom zglobu: fleksijskih kontraktura, subluksacije i nestabilnosti zgloba. Rezultat kod perifernih zglobova može biti neusklađenost duljine ekstremiteta: inicijalno zahvaćeni ekstremitet raste brže zbog povećanog dotoka krvi u upalom zahvaćene zglobove, a u konačnici zglob srasta, što rezultira skraćenim ekstremitetom. Artritis TM zgloba se može razviti u svim tipovima JIA, ali može biti i jedina manifestacija bolesti. S obzirom na to da je kondil odvojen od zglobnog prostora samo tankim slojem vlaknaste hrskavice zglob je izrazito osjetljiv na upalne procese. Iako dio djece inicijalno ne mora imati simptome afekcije TM zgloba, uobičajeni klinički simptomi uključuju bol u čeljusti, ukočenost, škljocanje zglobova i poteškoće sa žvakanjem. Ako se ne liječi, artritis može rezultirati asimetrijom lica i retrognatijom (4, 37). Artritis atlantoaksijalnih zglobova može rezultirati gubitkom njihovog integriteta i subluksacijom, posebno u bolesnika s pJIA i sJIA. Navedeno, osim kronične boli i ograničenja pokreta, može pri izraženijem zabacivanju glave (npr. intubacija) dovesti do kompresije i oštećenja kralježnične moždine (4).

Kronični uveitis (upala srednje očne ovojnice) razvija se u do 50 % djece s JIA, najčešće oligoartikularnom tipu bolesti, rjeđe u pJIA i jSpA. Rizik njegovog razvoja iznimno povećava pozitivan nalaz ANA. Iako se može razviti i u formi panuveitisa, najčešće je prednji (ili iridociklitis) i inicijalno pot-

puno asimptomatski. Kronični uveitis detektira se oftalmološkim pregledom, najčešće u sklopu inicijalne obrade JIA. Rijetko može prethoditi osnovnoj bolesti ali i javiti se mjesecima ili godinama nakon postavljanja dijagnoze JIA. Ukoliko se ne prepozna i ne liječi u ranoj fazi, može dovesti do glaukoma, katarakte i sljepoće (38). Akutni uveitis se također može javiti u JIA, manifestira se naglim razvojem crvenila, bolnosti i suženja oka uz fotofobiju i primarno je vezan je uz ERA.

Reumatoidni čvorići javljaju se najčešće kod pJIA RF+ tipa bolesti. Obično ukazuju na teži, nekontrolirani tijek bolesti (4).

Moguća komplikacija sJIA je MAS. MAS se može razviti i tijekom infekcija, zloćudnih bolesti te sistemskog eritemskog lupusa (SLE) i drugih autoimunih bolesti. Početak MAS-a je obično iznenađan i dramatičan, a može se javiti u ranoj fazi bolesti ili pri relapsu. Intermitentni, pseudoseptički febrilitet mijenja obrazac i postaje kontinuiran uz pogoršanje općeg stanja bolesnika, pogoršanje stanja svijesti, razvoj hemoragijske dijateze i progresiju limfadenopatije i hepatosplenomegalije. Rano prepoznavanje na temelju razvoja kliničke slike i postojećih laboratorijskih kriterija te agresivno liječenje u specijaliziranom centru nužno je s ciljem izbjegavanja komplikacija i mogućeg smrtnog ishoda (34, 35).

POSTAVLJANJE DIJAGNOZE JIA

Podaci koji već u anamnezi sugeriraju mogućnost razvoja JIA su perzistirajuća/progresivna oteklinatete ukočenost zahvaćenih zglobova, posebno naglašena ujutro nakon buđenja (blaže i nakon svakog dužeg mirovanja) pri čemu ostali simptomi upale mogu, ali ne moraju biti prisutni. Često, ali ne nužno, kao okidač navedenih simptoma roditelji navode prethodnu traumu ili akutnu infekciju (respiratornog ili gastrointestinalnog sustava). U kliničkom statusu evidentna je oteklinatjednog ili više zglobova, a ukoliko bolest iole duže traje razvija se i ograničenje pokreta te hipotrofija okolne muskulature. Kod ERA-e među simptomima dominiraju bolovi te jutarnja ukočenost, a u slučajevima sJIA intermitentni, pseudoseptički febrilitet koji uz porast upalnih parametara, leukocitozu s pojavom nezrelih oblika neutrofila i negativne nalaze mikrobiološke obrade, ne regredira na primjenu antibiotika. Navedeni podaci iz anamneze,

statusa te inicijalnog kliničkog tijeka bolesti ukazuju na razvoj JIA te predstavljaju indikaciju za upućivanje na pregled dječjem reumatologu i daljnju obradu (2, 14).

Svi učinjeni laboratorijski nalazi (sedimentacija eritrocita, C reaktivni protein, kompletna krvna slika, GUK, urea, kreatinin, hepatogram, CK, LDH, Fe, UIBC, TIBC, feritin, koagulogram, elektroforeza proteina, imuno elektroforeza) mogu biti uredni (posebno u oJIA) i nisu ključni, ali pomažu pri postavljanju dijagnoze bolesti. Porast vrijednosti upalnih parametara uz leukocitozu detektira se u pJIA te sJIA, u kojeg se nalaze i posebno visoke vrijednosti feritina i fibrinogena (3, 4). Pri razvoju MAS-a, uz povišene koncentracije feritina (>684 ng/mL) moraju biti zadovoljena još barem 2 laboratorijska kriterija: broj trombocita $\leq 181,000/\mu\text{L}$, aspartat aminotransferaza (AST) > 48 U/L, trigliceridi > 156 mg/dL i fibrinogen ≤ 360 mg/dL (39). Definitivnu potvrdu razvoja komplikacije osigurava nalaz hemofagocita u punktu koštane srži ili jetre.

Među imunološkim nalazima nužno je u djece sa sumnjom na razvoj JIA odrediti ANA, čiji pozitivan nalaz primarno ukazuje na rizik razvoja kroničnog uveitisa te RF, a kod jasne sumnje na pJIA RF + i anti-CCP.

Dijagnostičko-terapijska punkcija zahvaćenog zgloba/zglobova obično se izvodi kod opsežnog izljeva u većim zglobovima. Tipičan nalaz u evakuiranoj sinovijalnoj tekućini je: citološki - raspadnuti neutrofili, imunološki - pozitivan ili negativan RF te mikrobiološki - sterilan nalaz (3).

Među slikovnim metodama najvažnija je UZV osteomuskularnog sustava kojim se kao jasan znak upale prikazuje hipertrofija i pojačana prokrvljenost sinovije uz izljev u zahvaćenim zglobovima (40). Rtg snimanjem zahvaćenih zglobova prikazuju se znakovi kronične upale na uzglobljenim dijelovima kosti (paraartikularna osteopenija i ubrzana maturacija jezgara okoštavanja u blizini upalom zahvaćenog zgloba). Magnetna rezonanca (MR) u pravilu je rezervirana za slučajeve ERA sa zahvaćanjem sakroilijakalnih zglobova i zglobova kralježnice te kod sumnje na artritis TM zglobova (41), a iznimno se koristi i za snimanja perifernih zglobova, posebno u slučajevima nejasne etiologije i komplikacija.

Zbog djelovanja proupalnih citokina na ravnotežu aktivnosti osteoklasta i osteoblasta u čitavom skeletu, u djece s JIA u pravilu se izvodi i denzitometrija skeleta, uz napomenu da referentne Z vrijednosti, koje se očitavaju u djece samo za L1-L4 segment kralježnice, postoje samo u određenim centrima. Stupanj inicijalnog sniženja Z vrijednosti ukazuje na aktivnost i trajanje bolesti, a tijekom kasnijeg praćenja služi za kontrolu uspjeha liječenja.

Obvezni, iznimno važan element inicijalnog dijagnostičkog algoritma predstavlja oftalmološki pregled, na koji se zbog mogućnosti razvoja uveitisa (posebno u slučaju pozitivnog nalaza ANA) obvezno upućuju sva djeca sa sumnjom na JIA. Pregled uključuje evaluaciju prednjeg (biomikroskopski pregled) i stražnjeg oćnog segmenta (pregled fundusa). U slučaju definitivnog postavljanja dijagnoze JIA nužni su daljnji redoviti oftalmološki pregledi (inicijalno svaka 2 mjeseca, nakon pola godine od postavljanja dijagnoze JIA svaka 3-4 mjeseca/6-7 godina, a potom (obićno iza 12. godine života) 1 x godišnje). U slučaju detekcije uveitisa, topićku terapiju i dinamiku oftalmoloških kontrola određuje oftalmolog s iskustvom u lijećenju autoimunih uveitisa, dok sistemska terapija zah-tijeva blisku suradnju dječjeg reumatologa i oftalmologa (38).

Posebni dijagnostićki algoritam rezerviran je za bolesnike sa sumnjom na razvoj sJIA. S obzirom na to da ne postoji niti jedan specifićan nalaz koji bi ukazivao na razvoj ovog tipa bolesti, odnosno dijagnoza se postavlja isključivanjem drugih patoloških stanja sa sličnom prezentacijom, u djece je nužno brzo učiniti opsežnu mikrobiološku obradu i isključiti maligna oboljenja (leukemije/limfomi), a tek potom razmišljati o postavljanju dijagnoze sJIA uz otvorenu mogućnost i razvoja drugih, posebno sistemskih autoimunskih ili autoinflatarnih bolesti (14, 34, 35).

DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA JIA

Diferencijalno dijagnostićki u obzir dolaze infekcije, hematološke i maligne bolesti, metabolićke bolesti te druge upalne reumatske bolesti (npr. SLE) (4).

LIJEĆENJE JIA

Suvremeni terapijski algoritmi JIA najvećim dijelom temelje se na tzv. „treat to target“ (T2T) pristupu: inicijalna terapija se u slučaju izostanka učinka zamjenjuje sljedećim stupnjem sve dok se ne postigne zadovoljavajuća kontrola bolesti, u idealnim uvjetima stabilna klinićka i laboratorijska remisija pod terapijom (42). Prvu terapijsku liniju predstavljaju lijekovi iz skupine nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAID, engl. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*), dominantno ibuprofen (indometacin kod lijećenja ERA). Prva linija terapije se prema procjeni može kombinirati s punkcijom upalom zahvaćenih zglobova uz intraartikularnu aplikaciju depo preparata glukokortikoida (minimalni razmak 3 mjeseca, ne češće od 2 puta godišnje). Sistemska primjena glukokortikoida rezervirana je prema važećim smjernicama samo za inicijalno lijećenje sJIA. Sljedeće terapijske linije podrazumijevaju primjenu lijekova koji modificiraju tijek reumatske bolesti (DMARDs, engl. *disease modifying antirheumatic drugs*): konvencionalni (csDMARDs, najčešće metotreksat (leflunomid u slučaju nepodnošenja metotreksata); sulfasalazin u lijećenju ERA), biološki (bDMARDs: TNF inhibitori, blokatori IL-6, blokatori IL-1, itd.) te ciljani (tDMARDs: inhibitori Janus kinase (JAK inhibitori)). Terapijske sheme i trajanje terapije su različiti, ovisе o trajanju simptoma, tipu bolesti, intenzitetu te razvoju komplikacija. Na primjer: oJIA s inicijalnim zahvaćanjem koljena lijeći se kombinacijom sistemske primjene NSAID i intra-artikularnom aplikacijom depo pripravka glukokortikoida (triamcinolon hexacetonid). Isti tip bolesti, ali uz rano zahvaćanje gležnja ili kuka se odmah lijeći primjenom cDMARD (metotreksat) (43).

U slučaju razvoja uveitisa u sklopu JIA za kontrolu bolesti koriste se topićki pripravci glukokortikoida u kombinaciji s midrijatikom. Sistemska terapija ista je kao i za osnovnu bolest, s time da se stupanj terapije korigira prema aktivnijoj komponenti bolesti (38).

Lijećenje JIA i komplikacija definitivno pripada domeni subspecijalistićkih procjena i preporuka (43).

NOVE TERAPIJSKE OPCIJE U LIJEČENJU JIA I KOMPLIKACIJA

bDMARD

Sve veće razumijevanje uloge i djelovanja citokina u JIA dovelo je do razvoja bDMARD. Oni djeluju kao imunomodulatori, smanjuju upalu i sprječavaju kliničke manifestacije autoimunosne ili autoinflamatorne bolesti. Primjenjuju se subkutano ili intravenski.

TNF inhibitori

Faktor tumorske nekroze (TNF) proizvode uglavnom makrofagi, ali i druge stanice imunološkog sustava. Stimulira lučenje IL-1, potiče proliferaciju i diferencijaciju proupalnih stanica te djeluje kao glavni citokin u razvoju artritisa i vaskulitisa. Skupini lijekova koja blokira njegovo djelovanje pripadaju: adalimumab (obično prva linija liječenja u slučaju artritisa i/ili uveitisa), etanercept (prva linija u liječenju artritisa bez uveitisa), infliksimab (druga linija u liječenju artritisa, posebno učinkovit u liječenju uveitisa) te golimumab.

Anti-interleukin-1

IL-1 je skupina citokina koja aktivira prijenos signala, a njihova inhibicija dovodi do smanjene produkcije proupalnih faktora transkripcije. U navedenoj skupini lijekova nalaze se anakinra, rilonacept i canakinumab. Inhibitori IL-1 primjenjuju se primarno u liječenju sJIA i MAS-a.

Anti-interleukin-6

IL-6 je proupalni citokin koji potiče produkciju TNF i IL-1, u kombinaciji s njima inducira diferencijaciju Th17 stanica koje proizvode IL17. IL-17 i TNF potiču proizvodnju metaloproteinaza u hondrocitima i fibroblastima putem kojih dolazi od upalnog oštećenja struktura zglobova. Inhibitor IL-6 je tocilizumab i obično se koristi kao druga bDMARD linija kod pJIA i sJIA koji ne reagiraju na početno liječenje.

Anti-interleukin-23 i anti-interleukin-17

IL-23 stimulira IL-17 te u kombinaciji s njim inducira aktivaciju pomoćnih T-stanice i djeluje proupal-

no. Anti-IL-17, secukinumab koristi se za liječenje jPsA, a anti-IL-23, ustekinumab za liječenje artritisa s IBD-om i jPsA.

Stanični imunomodulatori

Da bi se T stanica aktivirala, antigen prezentirajuća stanica mora poslati dva signala, MHC u kombinaciji s antigenom i CD80 ili CD86. Abatacept se veže na molekule CD80 i CD86 i sprječava drugi signal aktivacije T-stanica. Koristi se za liječenje JIA u slučajevima neuspjeha prethodnih bDMARD.

Anti-CD20

Rituksimab je usmjeren na CD20, molekulu koja se nalazi na površini zrelih limfocita B i pri vezanju na CD20 uzrokuje njihovu apoptozu. Osim u liječenju ne-Hodgkinovog limfoma, SLE, JDM i vaskulitisa, koristi se u pojedinim, težim oblicima JIA u slučaju neuspjeha ostalih terapijskih opcija.

tDMARD Inhibitori Janus kinaze

Citokini se vežu na svoje površinske stanične receptore koji su u citoplazmi vezani za molekule iz obitelji Janus kinaza (JAK): Tyk2, Jak1, Jak2 i Jak3. Blokadom JAK signalnog puta smanjuje se učinak proupalnih citokina, a navedene spoznaje omogućile su stvaranje najnovije terapijske linije u liječenju JIA i drugih bolesti – JAK inhibitora. U navedenoj skupini nalaze se tofacitinib, baricitinib i ruksolitinib. Primjenjuju se peroralno i koriste za liječenje pojedinih tipova JIA u kojih prethodne linije terapije nisu imale uspjeha (4, 44, 45).

OSTALE PREPORUKE U LIJEČENJU JIA

U redovitom praćenju djece s JIA nužno je voditi brigu o redovitom uzimanju propisane terapije, odlasku na redovite kontrole pedijatrijskog reumatologa i oftalmologa te simptomima infekcija.

Prehrana i dodaci prehrani

Iako postoje jasni znakovi povezanosti poremećaja funkcije gastrointestinalnog sustava (GI) i artritisa povezanog s IBD-om, nema jasne povezanosti s drugim podtipovima JIA. I dalje se istražuje uloga prehrane, posebno mliječnih proizvoda i glutena na mikrobiom GI sustava (46). Iako dio

roditelja, koja samoinicijativno u svoje djece s JIA provodi ograničenje unosa glutena i/ili laktoze navodi smanjenje boli i/ili oticanja zglobova, smatra se da je uloga prehrane u JIA još uvijek nerazjašnjena. Eliminacijske dijetete nisu dokazano učinkovite i mogu biti štetne za djetetov razvoj (47). Prehrana treba biti raznolika, a posebnu pažnju nužno je posvetiti održavanju primjerene tjelesne mase.

Prema dijelu studija dodatak probiotika u prehrani (posebno nakon terapije antibioticima) smanjuje aktivnost upale i poboljšava klinički status u bolesnika s JIA i RA (48). Ipak, njihova uloga u terapiji autoimunskih bolesti, posebno u djece, još uvijek nije jasna i ne preporučuje se njihova rutinska primjena u bolesnika s JIA.

Zdravlje kostiju u djece s JIA ugroženo je kroničnom upalom, ograničenom fizičkom aktivnošću te lijekovima koji se koriste za kontrolu bolesti (posebno GK). Proupalni citokini, koji iz bolešću zahvaćenih zglobova ulaze u sistemsku cirkulaciju, remete pregradnju kosti i dovode do osteopenije/osteoporoze. Nedostatak vitamina D rezultira padom koncentracije ioniziranog kalcija u serumu, povećanim lučenjem paratiroidnog hormona i povećanom aktivnošću osteoklasta. Više studija sugerira ulogu manjka vitamina D u patogenezi SLE i artritisa zbog naglašene aktivacije imunološkog sustava (49). Osim adekvatne kontrole bolesti, u djece s JIA je zbog svega navedenog u pravilu nužna nadoknada vitamina D. Preporučuje se održavanje razine 25-hidroksi D3 u krvi iznad 30 ng/mL, a to se u pravilu postiže dnevnim unosom od 1000 IU u djece do 2000 IU u adolescenata i mladih odraslih osoba. U djece s JIA i težom osteopenijom/osteoporozom dodatno može biti potrebna i terapija bisfosfonatima (50).

Fizička aktivnost

Umjerena fizička aktivnost u djece s JIA (osim u početnoj i/ili aktivnoj fazi bolesti) je poželjna i preporučuje se. Pri sportskoj aktivnosti treba izbjegavati sva veća opterećenja zglobova (skokovi i doskoci - nogomet, košarka, odbojka, rukomet, tenis, gimnastika...). Idealan sport za djecu s JIA je plivanje (rekreativno).

Osim medikamentoznog liječenja, u bolesnika će često biti potrebna i fizikalna terapija, u nekim slučajevima i u stacionarnim ustanovama (uz preporuku dječjeg reumatologa).

Cijepljenje

Prilikom planiranja obveznog i dodatnog cijepljenja djece s JIA, koje se generalno preporučuje, vrijede osnovne preporuke:

- primjena neživih cjepiva nije ograničena primjenom standardnih doza NSAID, GK ili DMARD. Cijepljenje se privremeno odgađa u slučajevima težeg, nekontroliranog JIA do uspostave kontrole bolesti;
- tijekom liječenja visokim dozama GK (pulsne doze) ili bDMARD ne provodi se cijepljenje cjepivima koja sadržavaju žive uzročnike.

Prije početka liječenja (posebno TNF inhibitorima) obavezno je isključiti latentnu tuberkulozu (Quantiferon gold test) te odrediti titar protutijela na HBV i HCV. U bolesnika s JIA sva cijepljenja bi trebala biti ažurirana uz protektivni titar protutijela (4, 14).

PROGNOZA JIA

Do sada nisu identificirani biomarkeri ili drugi pretkazatelji individualne prognoze JIA. Na temelju dugotrajnog praćenja velikog broja ranije oboljele djece, moguće je u korelaciji s tipom bolesti iskazati samo okvirnu vjerojatnost povoljnog ishoda. Najpovoljnija prognoza očekuje se u djece s oJIA. Smatra se da će u do 2/3 navedenih bolesnika biti u konačnici postignuta trajna, stabilna remisija bez terapije. Pri tome izrazito ograničavajući faktor povoljnog ishoda predstavlja eventualno pridruženi uveitis, koji je za razliku od artritisa, izrazito sklon relapsu. Najlošiju prognozu ima pJIA RF+ tip bolesti, većina navedenih bolesnika u tranziciju prema internističkoj skrbi ulazi na terapiji bDMARD ili tDMARD te zahtjeva doživotno liječenje. U otprilike 50 % slučajeva sJIA očekuje se povoljan ishod (posebno u onih s inicijalno izraženim općim simptomima), dok se u druge polovice očekuje kronični tijek s relapsima bolesti, slično kao i u pJIA RF-, jPsA i ERA (3, 4).

ZAKLJUČAK

JIA je jedna od najčešćih kroničnih bolesti u djece. Suvremene spoznaje o etiopatogenezi dovele su razvoja novih terapijskih opcija ali i evolucije nove klasifikacije. Ona će ubrzati razvoj i registraciju lijekova sljedeće generacije čiji cilj je uspostava traj-

ne i stabilne remisije te predstavljaju sljedeći korak prema konačnom cilju – trajnoj remisiji bez terapije svih bolesnika s JIA.

LITERATURA

- Chen K, Zeng H, Togizbayev G, Martini A, Zeng H. New classification criteria for juvenile idiopathic arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2023;26:1889-92.
- Martini A, Lovell DJ, Albani S, et al. Juvenile idiopathic arthritis. *Nat Rev Dis Primers*. 2022;8(1):5.
- Zaripova LN, Midgley A, Christmas SE, Beresford MW, Baildam EM, Oldershaw RA. Juvenile idiopathic arthritis: from aetiopathogenesis to therapeutic approaches. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2021;19(1):135.
- McCurdy D, Parsa MF. Updates in juvenile idiopathic arthritis. *Adv Pediatr*. 2021;68:143-70.
- Petty RE, Southwood TR, Manners P, et al. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol*. 2004;31:390-2.
- Eng SW, Duong TT, Rosenberg AM, et al. The biologic basis of clinical heterogeneity in juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2014;66:34-63.
- Chhabra A, Robinson C, Houghton K, et al. Long-term outcomes and disease course of children with juvenile idiopathic arthritis in the ReACCh-out cohort: a two-centre experience. *Rheumatology (Oxford)*. 2020;59(12):3727-30.
- Martini A, Ravelli A, Avcin T, et al. Toward new classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: first steps, Pediatric Rheumatology International Trials Organization international consensus. *J Rheumatol*. 2019;46(2):190-7.
- Martini A. Are there new targets for juvenile idiopathic arthritis? *Semin Arthritis Rheum*. 2019;49(3S):S11-S13.
- Nigrovic PA, Colbert RA, Holers VM, et al. Biological classification of childhood arthritis: roadmap to a molecular nomenclature. *Nat Rev Rheumatol*. 2021;17(5):257-69.
- Martini A. It is time to rethink juvenile idiopathic arthritis classification and nomenclature. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(9):1437-9.
- Ravelli A, Varnier GC, Oliveira S, et al. Antinuclear antibody-positive patients should be grouped as a separate category in the classification of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum*. 2011;63:267-75.
- Martini A, Ravelli A, Avcin T, et al. Pediatric Rheumatology International Trials Organization (PRINTO). Toward new classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: first steps, Pediatric Rheumatology International Trials Organization international consensus. *J Rheumatol*. 2019;46:190-7.
- Jelušić M. Juvenilni idiopatski artritis. In: Jelušić M, Malčić I, editors. *Pedijatrijska reumatologija*. 1st ed. Zagreb: Medicinska naklada; 2014. p. 160-81.
- Thierry S, Fautrel B, Lemelle I, et al. Prevalence and incidence of juvenile idiopathic arthritis: a systematic review. *Joint Bone Spine*. 2014;81:112-7.
- De Silvestri A, Capittini C, Poddighe D, et al. HLA-DRB1 alleles and juvenile idiopathic arthritis: diagnostic clues emerging from a meta-analysis. *Autoimmun Rev*. 2017;16(12):1230-6.
- Ombrello MJ, Remmers EF, Tachmazidou I, et al. HLA-DRB11 and variants of the MHC class II locus are strong risk factors for systemic juvenile idiopathic arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112:15970-5.
- Mistry RR, Patro P, Agarwal V, Misra DP. Enthesitis-related arthritis: current perspectives. *Open Access Rheumatol Res Rev*. 2019;11:19-31.
- Mellins ED, Macaubas C, Grom AA. Pathogenesis of systemic juvenile idiopathic arthritis: some answers, more questions. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(7):416-26.
- Ombrello MJ, Arthur VL, Remmers EF, et al. Genetic architecture distinguishes systemic juvenile idiopathic arthritis from other forms of juvenile idiopathic arthritis: clinical and therapeutic implications. *Ann Rheum Dis*. 2017;76:906-13.
- Rigante D, Bosco A, Esposito S. The etiology of juvenile idiopathic arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2015;49(2):253-61.
- Horton DB, Shenoi S. Review of environmental factors and juvenile idiopathic arthritis. *Open Access Rheumatol*. 2019;11:253-67.
- Nistala K, Moncrieffe H, Newton KR, Varsani H, Hunter P, Wedderburn LR. Interleukin-17-producing T cells are enriched in the joints of children with arthritis, but have a reciprocal relationship to regulatory T cell numbers. *Arthritis Rheum*. 2008;58(3):875-87.
- Stoll ML, Punaro M. Psoriatic juvenile idiopathic arthritis: a tale of two subgroups. *Curr Opin Rheumatol*. 2011;23(5):437-43.
- Correll CK, Binstadt BA. Advances in the pathogenesis and treatment of systemic juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Res*. 2014;75(1-2):176-83.
- Minoia F, Davi S, Horne A, et al. Clinical features, treatment, and outcome of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: a multinational, multicenter study of 362 patients. *Arthritis Rheumatol*. 2014;66(11):3160-9.
- de Jager W, Hoppenreijns EP, Wulffraat NM, Wedderburn LR, Kuis W, Prakken BJ. Blood and synovial fluid cytokine signatures in patients with juvenile idiopathic arthritis: a cross-sectional study. *Ann Rheum Dis*. 2007;66(5):589-98.
- Berntson L, Nordal E, Fasth A, et al. Anti-type II collagen antibodies, anti-CCP, IgA RF and IgM RF are associated with joint damage, assessed eight years after onset of juvenile idiopathic arthritis (JIA). *Pediatr Rheumatol Online J*. 2014;12(1):22.

29. Mahmud SA, Binstadt BA. Autoantibodies in the pathogenesis, diagnosis, and prognosis of juvenile idiopathic arthritis. *Front Immunol*. 2019;9:3168.
30. Petty RE, Lindsley CB. Oligoarticular juvenile idiopathic arthritis. In: Petty RE, Laxer RM, Lindsley CB, et al., editors. *Textbook of Pediatric Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier; 2016.
31. Rosenberg AM, Kiem GO. Polyarticular juvenile idiopathic arthritis. In: Petty RE, Laxer RM, Lindsley CB, et al., editors. *Textbook of Pediatric Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier; 2016.
32. Tse SML, Petty RE. Enthesitis-related arthritis. In: Petty RE, Laxer RM, Lindsley CB, et al., editors. *Textbook of Pediatric Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier; 2016.
33. Nigrovic PA, Sundel RP. Psoriatic arthritis. In: Petty RE, Laxer RM, Lindsley CB, et al., editors. *Textbook of Pediatric Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier; 2016.
34. DeBenedetti F, Schneider R. Systemic juvenile idiopathic arthritis. In: Petty RE, Laxer RM, Lindsley CB, Wedderburn LR, editors. *Textbook of Pediatric Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier; 2016.
35. Davies R, Southwood T, Kearsley-Fleet L, et al. Mortality rates are increased in patients with systemic juvenile idiopathic arthritis. *Arch Dis Child*. 2017;102:206-7.
36. Lindsley CB, Laxer RM. Arthropathies of inflammatory bowel disease. In: Petty RE, Laxer RM, Lindsley CB, et al., editors. *Textbook of Pediatric Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier; 2016.
37. Stoll ML, Kau CH, Waite PD, et al. Temporomandibular joint arthritis in juvenile idiopathic arthritis, now what? *Pediatr Rheumatol Online J*. 2018;16:32.
38. Angeles-Han ST, Ringold S, Beukelman T, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation guideline for the screening, monitoring, and treatment of juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2019;71:703-16.
39. Ravelli A, Minoia F, Davi S, et al. 2016 Classification criteria for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: a European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology/Paediatric Rheumatology International Trials Organisation Collaborative Initiative. *Ann Rheum Dis*. 2016;75:481-9.
40. Janow GL, Panghaal V, Trinh A, et al. Detection of active disease in juvenile idiopathic arthritis: sensitivity and specificity of the physical examination vs ultrasound. *J Rheumatol*. 2011;38:2671-4.
41. Weiss PF, Arabshahi B, Johnson A, et al. High prevalence of temporomandibular joint arthritis at disease onset in children with juvenile idiopathic arthritis, as detected by magnetic resonance imaging but not by ultrasound. *Arthritis Rheum*. 2008;58(4):1189-96.
42. Ravelli A, Consolaro A, Horneff G, et al. Treating juvenile idiopathic arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis*. 2018;77(6):819-28.
43. Ringold S, Angeles-Han ST, Beukelman T, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis: Therapeutic Approaches for Non-Systemic Polyarthritis, Sacroiliitis, and Enthesitis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2019;71(6):717-34.
44. Gillard L, Pouchot J, Cohen-Aubart F, et al. JAK inhibitors in difficult-to-treat adult-onset Still's disease and systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2022;62(4):1594-604.
45. Rahman MM, Laila K, Rahman SA. Efficacy and safety of tofacitinib in the treatment of refractory cases of polyarticular course juvenile idiopathic arthritis: a study from Bangladesh. *Int J Rheum Dis*. 2022;25(6):678-84.
46. Arvonen M, Vänni P, Sarangi AN, et al. Microbial orchestra in juvenile idiopathic arthritis: Sounds of disarray? *Immunol Rev*. 2020;294(1):9-26.
47. Little EM, Grevich S, Huber JL, et al. Parental perception of dietary intervention in juvenile idiopathic arthritis. *J Altern Complement Med*. 2019;25(6):643-7.
48. Vaghef-Mehrabany E, Alipour B, Homayouni-Rad A, et al. Probiotic supplementation improves inflammatory status in patients with rheumatoid arthritis. *Nutrition*. 2014;30(4):430-5.
49. Finch SL, Rosenberg AM, Vatanparast H. Vitamin D and juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2018;16(1):34.
50. Bouillon R. Comparative analysis of nutritional guidelines for vitamin D. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(8):466-79.

Adresa za dopisivanje:

Prim. dr. sc. **Marijan Frković**, spec. pedijatar
 subspecijalist pedijatrijske reumatologije
 Klinika za pedijatriju, KBC Zagreb
 e-mail: mfrkovic1@gmail.com

SUMMARY

Novelties in juvenile idiopathic arthritis - what pediatricians need to know

Marijan Frković, Marija Jelušić

Objective: The paper offers a comprehensive overview of recent advances in the understanding of the causes, classification, and treatment of juvenile idiopathic arthritis (JIA).

Methods: A systematic review of the most recent literature was conducted.

Results: Juvenile idiopathic arthritis is among the most prevalent chronic illnesses in children. Advances in the understanding of the disease's causes and progression triggered the creation and use of novel treatments - biologic medications and Janus kinase (JAK) inhibitors - leading to significantly enhanced treatment outcomes for a substantial but not the entire number of patients. The disease classification, which currently divides JIA into 7 types based on initial clinical characteristics, no longer aligns with contemporary scientific understanding and restricts the registration of new medications. A revised classification system is being developed, which will primarily consider the genetic and immunological features of the patient when categorizing the disease. This is expected to result in the quicker deployment of future therapeutic treatments.

Conclusion: Advances in understanding the causes and development of JIA have driven the creation of novel medications and enhanced treatment results. Furthermore, they promoted the creation of a novel disease classification system, whose main aim is to facilitate the production and approval of next-generation medications, which in turn is a step towards achieving the ultimate objective of permanent stable remission for all patients with JIA.

Key words: ARTHRITIS, JUVENILE; CLASSIFICATION; THERAPY

Nutritivni status, bol i umor u bolesnika s reumatskim bolestima

Mandica Vidović*

Reumatske bolesti dječje dobi jedne su od najčešćih kroničnih bolesti, a karakterizirane su razdobljima pogoršanja i remisije s ili bez lijekova. Pokretač je autoimunosno zbivanje koje uključuje aktivaciju prirođenog i/ili stečenog imunološkog odgovora koja rezultira kroničnom upalom sa zahvaćanjem različitih tkiva i organa. Usredotočenost na patofiziološke mehanizme, genetsku podlogu i liječenje koje je ulaskom tzv. „bioloških“ lijekova osiguralo brzo smirivanje upale i simptoma skrenulo je pažnju s nekih segmenata zdravstvenog stanja bolesnika koji mogu značajno utjecati na svakodnevno funkcioniranje, obrazovanje, školovanje i kvalitetu života općenito. Nutritivni status, bol i umor ne smiju se zanemariti i moraju postati dio rutinske procjene kod svake liječničke posjete. U ovom radu su opisane osnovne karakteristike nutritivnog statusa, boli i umora u djece s reumatskim bolestima i mogućnosti intervencije.

Ključne riječi: DIJETE; REUMATSKE BOLESTI; NUTRITIVNI STATUS; BOL; UMOR

UVOD

Reumatske bolesti dječje dobi jedne su od najčešćih kroničnih bolesti, a karakterizirane su razdobljima pogoršanja i remisije sa ili bez lijekova. U reumatske bolesti dječje dobi ubrajamo:

1. juvenilni idiopatski artritis (JIA)
2. sistemski eritematozni lupus s početkom u djetinjstvu (JoSLE, engl. *juvenile onset Systemic Lupus Erythematosus*)
3. juvenilni dermatomiozitis (JDM)
4. vaskulitise
5. autoinflamatorne bolesti (1).

U podlozi ovih bolesti je autoimunosno zbivanje koje uključuje aktivaciju prirođenog i/ili stečenog imunološkog odgovora koja rezultira kroničnom upalom sa zahvaćanjem različitih tkiva i organa. Kod bolesnika se javljaju simptomi poput bolova u

mišićima i zglobovima, otekline zglobova, jutarnje ukočenosti, promjena na koži i drugim organskim sustavima te opći simptomi poput vrućice, umora, malaksalosti i slabosti.

Dijagnozu postavljamo iscrpnom anamnezom, dobrim kliničkim pregledom i laboratorijskom obradom koja uključuje serološke pretrage na različita protutijela poput antinuklearnog (ANA, engl. *Anti Nuclear Antibody*), reumatoidnog faktora (RF), antineutrofilnih citoplazmatskih protutijela (ANCA, engl. *Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies*), protutijela na ciklički citrulinski peptid (anti CCP) te HLA tipizacijom na pojedine lokuse (1). Vrlo su važne slikovne metode poput muskuloskeletnog ultrazvuka koji zbog svoje pristupačnosti, bezbolnosti, jednostavnog izvođenja čak i uz krevet bolesnika te malih troškova postaje važan alat u procjeni upale zglobova u bolesnika s JIA. Magnetska rezonancija (MR), kompjutorizi-

* Zavod za pedijatrijsku pulmologiju, alergologiju, kliničku imunologiju i reumatologiju, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva ulica 16, Zagreb

rana tomografija (CT, engl. *Computerized Tomography*), rendgensko snimanje (RTG), scintigrafija i druge metode koriste se u indiciranim slučajevima (2). Nerijetko je potrebna konzultacija subspecijalista poput infektologa, pedijatrijskog dermatologa, ortopeda, oftalmologa, nefrologa, fizijatra i dr. da bi se upotpunila slagalica i postavila dijagnoza, posebno zato što nemamo dovoljno specifičnih biomarkera koji bi nam pomogli u postavljanju dijagnoze.

Liječenje bolesnika obuhvaća kombinaciju primjene lijekova, postupaka poput punkcije zglobova uz aplikaciju glukokortikoida, fizikalne terapije i drugih intervencija. Od lijekova se najčešće upotrebljavaju oni iz skupine nesteroidnih protuupalnih lijekova poput ibuprofena, naproksena, meloksikama i indometacina (NSAID, engl. *Non-steroidal Anti Inflammatory Drugs*), zatim lijekovi koji utječu na tijek bolesti poput metotreksata, sulfasalazina ili leflunomida (DMARD, engl. *Disease Modifying Antirheumatic Drugs*), dok se glukokortikoidi koriste kao “vezna” terapija, kratkotrajno dok druge terapijske opcije ne počnu djelovati (3). Također se mogu koristiti lijekovi poput ciklofosfamida, ciklosporina, mikofenolat mofetila, a pravu “revoluciju” u liječenju reumatskih bolesti napravili su tzv. “pametni” ili biološki lijekovi (4). To su molekule usmjerene na proupalne citokine, njihove receptore i na različite regulacijske molekule u upalnom odgovoru. Zajedničko im je relativno brzo zaustavljanje upale što je rezultiralo porastom očekivanja liječnika, ali i bolesnika i njihovih obitelji. Brzim stavljanjem bolesti pod kontrolu ostvaruju se preduvjeti nastavka normalnog rasta i razvoja, usvajanja svih funkcionalnih vještina, zaustavlja se trajno oštećenje organa i podiže kvaliteta života. U liječenje se uključuje multidisciplinarni tim ovisno o vrsti bolesti i trenutačnim potrebama bolesnika (5).

Usredotočenost na patofiziološke mehanizme, genetsku podlogu, dijagnostičke i terapijske metode dovela je, međutim do zanemarivanja nekih simptoma i stanja koji nisu direktno povezani s osnovnom bolesti, ali značajno utječu na svakodnevno funkcioniranje, obrazovanje i kvalitetu života općenito. Nutritivni status, bol i umor ne smiju se zanemariti i moraju postati dio rutinske procjene kod svake liječničke posjete.

NUTRITIVNI STATUS

Nutritivni status pojedinca može se definirati kao rezultat između primljenog nutritivnog unosa i nutritivnih potreba, te sposobnosti organizma za korištenje hranjivih tvari, održavanje rezervi i nadoknadu gubitaka (6).

Procjena nutritivnog statusa u djece

Koncept procjene stanja uhranjenosti ima vrlo široku primjenu. S medicinskog stajališta poznavanje stanja uhranjenosti zdrave, ali i specifične populacije poput starijih, djece i kroničnih bolesnika dio je sve zastupljenijeg holističkog pristupa. Redovito praćenje nutritivnog statusa važno je za identifikaciju one djece koja su u riziku od nutritivnih poremećaja kao što su pretilost ili pothranjenost. Oba stanja nose sa sobom rizik razvoja različitih komplikacija i komorbiditeta, a ako dijete uz to boluje od kronične bolesti poremećaj uhranjenosti dodatno djeluje na tijek, prognozu bolesti i razvoj komplikacija (7).

Utjecaj prehrane i nutritivnog statusa na tijek reumatskih bolesti u djece je teško sagledati ponajviše zbog utjecaja obitelji, pristranog i često nepreciznog izvještavanja djeteta i/ili roditelja, zbog čega se koristimo objektivnim metodama procjene nutritivnog statusa (8).

Index tjelesne mase (ITM) najčešće je upotrebljavanja mjera procjene nutritivnog statusa. ITM je parametar koji povezuje tjelesnu masu s visinom ($ITM = \text{tjelesna masa (kg)} / \text{visina}^2 \text{ (m}^2\text{)}$) te se koristi za dijagnozu pothranjenosti i pretilosti (7, 9). Od ostalih metoda analize sastava tijela najčešće se upotrebljavaju analiza bioimpedancije (BIA, engl. *Bioimpedance Analysis*) koja je jednostavna, jeftina i neinvazivna metoda za procjenu sastava tijela te rendgenska apsorpciometrija s dvostrukom energijom (DEXA engl. *Dual-Energy X-ray Absorptiometry*) koja se trenutačno smatra najtočnijom tehnikom za mjerenje sastava tijela, ali se zbog svoje visoke cijene i niske dostupnosti te izlaganja pacijenata određenoj količini zračenja uglavnom koristi u istraživanjima (10). Uz to je procjenu moguće učiniti kompjutoriziranom tomografijom i magnetskom rezonancijom koje omogućuju kvantificiranje masnog i nemasnog tkiva, raspodjele potkožnog i visceralnog masnog tkiva i procjenu mase skeletnih mišića, te denzitometrijom i ultrazvukom mišića koje se rijetko

upotrebljavaju (11). U kliničkoj praksi koristimo i laboratorijske parametre poput serumskog albumina, transferina, kreatinina, 3-metilhistidina, kolesterola i ukupnih limfocita (12).

Suboptimalna prehrana nepovoljno utječe na dugoročni ishod djece s reumatskim bolestima utječući na opće stanje, kontrolu bolesti i rast (7). Pravilna prehrana omogućava normalan rast i razvoj, može smanjiti upalu i pomoći imunološkom sustavu da se vrati u ravnotežu (13).

Nutritivni status i reumatske bolesti djece dobi

Što se tjelesne visine i težine tiče, bolesnici s poliartrikularnim oblikom JIA su u odnosu na zdrave vršnjake imali manju tjelesnu težinu i visinu, a bolesnici sa sistemskim oblikom JIA manju tjelesnu težinu. Poremećaj u rastu posljedica je djelovanja proupalnih citokina poput IL-6 i TNF-alfa, ali i glukokortikoidne terapije. Nakon ukidanja glukokortikoida 70 % djece sustigne zdrave vršnjake. Unatoč tome 85 % djece na glukokortikoidnoj terapiji ima nižu krajnju dosegnutu visinu (14). Najveće zaostajanje u rastu u visinu je, prema većini literaturnih podataka u prve tri godine bolesti, čak i kod onih koji nisu bili na glukokortikoidnoj terapiji, ali su imali izraženu upalu (15, 16). Zaostajanje u rastu povezuje se s povećanim katabolizmom u aktivnoj bolesti, sniženim vrijednostima inzulinu sličnog faktora rasta (IGF engl. Insulin Growth Factor) zbog povišenog IL-6, IL-1, TNF-alfa te glukokortikoidne terapije koja uz djelovanje na IGF dodatno suprimira osteoblaste (17). Djeca s reumatskim bolestima imaju pad u mišićnoj masi, porast postotka masnog tkiva i veće potrebe za energijom zbog pojačanog katabolizma proteina induciranog proupalnim citokinima u odnosu na zdrave vršnjake (18). Ponekad je manji unos kalorija posljedica bolova, lošeg sna, anoreksogenih citokina i sniženog raspoloženja bolesnika. (19). Dio djece je pretilo, negdje od 17-30 % s povećanim unosom masti i šećera u prehrani, ali se u odnosu na zdravu populaciju vršnjaka taj postotak i ne razlikuje previše (20, 21). To potvrđuje zabrinjavajući trend porasta pretilosti u djece općenito.

Često roditelji odluče promijeniti prehranu djeteta koje boluje od reumatske bolesti potaknuti neprovjerenim informacijama. Najčešće se odlučuju

za bezglutensku prehranu, prehranu bez laktoze ili vegetarijansku/vegansku dijetu. Podaci iz studije na 261 bolesniku s JIA pokazali su da su roditelji smatrali da je poboljšanje stanja njihovog djeteta oko 50 %. Kad su se analizirali podaci o promjeni modaliteta liječenja, u grupi djece na bezglutenskoj prehrani 19 % njih povećalo primjenu lijekova, 8 % smanjilo, a kod 73 % nije došlo ni do kakve promjene. U grupi na prehrani bez laktoze subjektivni osjećaj roditelja se bolje pokazalo s promjenama u liječenju - 20 % bolesnika je smanjilo terapiju, 70 % nije promijenilo i nije bilo pogoršanja osnovne bolesti (22). Studije imaju svoja ograničenja, ali roditelje svakako treba savjetovati o eliminaciji nezdrave hrane, aditiva, emulgatora, pretjerane količine ugljikohidrata i mliječnih proizvoda. Nepotrebne restrikcije koje nisu utemeljene na dokaznoj intoleranciji ili alergiji imaju dodatne opasnosti u odgođenom početku medikamentoznog liječenja, jer se misli da će promjena prehrane poboljšati stanje.

Nutritivne intervencije u djece s reumatskim bolestima

Bolesnici s JIA imaju niže vrijednosti omega 3 i omega 6 masnih kiselina, te niže vrijednosti vitamina D u odnosu na zdrave vršnjake. U istraživanjima koja su uključivala ispitivanje dnevnog unosa hrane, antropometrijsko mjerenje i laboratorijske nalaze nađene su niže vrijednosti vitamina A i C, proteina, kalcija, cinka, povišen bakar i aktivnost glutathion peroksidaze (23, 24). Moguće je da su ova odstupanja posljedica promijenjenih nutritivnih potreba kod bolesnika s kroničnom upalom, ali i neadekvatne prehrane, posebno smanjenog unosa voća i povrća (23). Pokazalo se npr. da borovnice smanjuju koncentraciju protuupalnih citokina IL-1 alfa i beta (25).

Postoje preporuke za uzimanje folne i folinske kiseline uz terapiju metotreksatom ne samo u svrhu smanjivanja nuspojava poput mučnine, povraćanja, gubitka kose i apetita te umora, već i zbog prevencije povišenih jetrenih enzima i leukopenije. Po radnoj skupini za preporuke za liječenje bolesnika s JIA metotreksatom (MARA)JIA, engl. *Methotrexate Advice and Recommendations on Juvenile Idiopathic Arthritis*) preporučuje se suplementacija folinskom kiselinom i to 1/3 doze metotreksata 24 sata nakon tjedne primjene lijeka, a po

Američkoj akademiji za reumatologiju (ACR, engl. *American College of Rheumatology*), folna kiselina 1 mg dnevno osim na dan primjene metotrek-sata (26, 27). Također se preporučuje suplementacija bakra i cinka ako su sniženi zbog njihove uloge košimbenika u održavanju ravnoteže imunološkog sustava i integriteta zglobnog tkiva (28).

Aktivnost bolesti, njezino trajanje i aktivna upala utječu na metabolizam kostiju i smanjivanje mineralizacije što povećava rizik od osteopenije i osteoporoze u djece s reumatskim bolestima (29). Osteopenija je prisutna u 36.5 % djece, posebno je izražena u djece s JIA. Ovo stanje ne ovisi spolu, dobi, dobi javljanja bolesti niti terapiji metotrek-satom (30). Uz osteopeniju su nađene smanjene vrijednosti kalcija, magnezija, 25 hidroksi vitamina D (25(OH)D) i vitamina D. Vitamin D ima važnu ulogu u homeostazi fosfata i kalcija te dosezanju optimalnog rasta. Suplementacija se provodi kod premalog unosa hranom, nedovoljne izloženosti sunčevom svjetlu posebno kod ranjivih skupina kao što su djeca, starije osobe i kronični bolesnici (31). Što se suplementacije u djece s reumatskim bolestima tiče, ona povećava koncentraciju kalcija i vitamina D, ali nema jasnih podataka o utjecaju iste na koštanu gustoću (32). Također se razina vitamina D nije mogla dovesti u vezu s aktivnosti bolesti (33, 34). Raniji radovi pedijatrijskih reumatologa su preporučavali suplementaciju, međutim, trenutačni podaci su nedostatni da bi se definitivno potvrdila komplementarna uloga vitamina D u liječenju djece s reumatskim bolestima. Uzimajući u obzir visoku prevalenciju nedostatka vitamina D u cijelom svijetu, djecu i adolescente treba poticati na nadoknadu vitamina D u skladu s trenutačnim preporukama. Potrebno je više intervjenskih studija, posebno dobro osmišljenih kliničkih ispitivanja kako bi se odredio potencijalni značaj vitamina D u liječenju ovih bolesnika (35).

Anemija prati kronične reumatske bolesti, a javlja se u 35.52 % djece, te je puno dublja i ima drugačiji tijek od one u odraslih bolesnika (36, 37). To je uglavnom imunološki uzrokovan poremećaj s poremećenom homeostazom željeza, oštećenom proliferacijom eritroidnih progenitora i smanjenom biološkom aktivnosti eritropoetina, uz smanjen poluživot eritrocita (38). Heparin je peptidni hormon iz jetre koji sudjeluje u regulaciji metabolizma željeza i na čiju ekspresiju utječe preoptere-

ćenje željezom, proupalni medijatori (kao što su IL-1, IL-6 ili IL-22) te infektivni podražaji poput lipopolisaharida (39). Povećane koncentracije cirkulirajućeg hepcidina blokiraju apsorpciju željeza iz duodenalnih enterocita i prelazak željeza iz makrofaga što smanjuje njegovu raspoloživost (40, 41). Preporuka je da se kod kroničnih bolesnika, nevezano za mehanizam nastanka suplemen-tira željezo, ali su se peroralni preparati pokazali inferiorniji u usporedbi s parenteralnim kod teži oblika anemije (42).

Suboptimalna prehrana dugoročno nepovoljno utječe na ishod djece s reumatskim bolestima. Nutritivni deficit djeluje na opće stanje, kontrolu bolesti, rast, upalu, ITM i gustoću kostiju. Praćenje nutritivnog statusa i intervencije u smislu korekcije unosa hranjivih tvari, minerala i vitamina pomažu tijelu da se oporavi i smanji upalni proces. Zbog svega navedenog su danas nutricionisti postali integralni dio multidisciplinarnog tima (43).

BOL

Bol je simptom koji se javlja među prvim i ostaje najduže uz djecu s reumatskim bolestima. Prema radnoj skupini za taksonomiju Međunarodnog udruženja za bol iz 1994.g. definira se kao "neugodno osjetilno i emocionalno iskustvo povezano sa sadašnjim ili potencijalnim oštećenjem tkiva" (44). To je višedimenzionalan simptom koji uključuje biološke, okolišne i kognitivno-bihevioralne mehanizme (45).

Karakteristike boli u djece s reumatskim bolestima

Postoje dokazi da stupanj oštećenja tkiva, simptomi bolesti i radiološki nalazi nisu u korelaciji s bolesnikovom percepcijom boli i kvalitetom života (46). Bol u reumatskim bolestima nadilazi tradicionalnu nociceptivnu paradigmu, uključujući složenu interakciju između nociceptivnih, neuropatskih, nociplastičnih mehanizama, ali i značajnih psihosocijalnih čimbenika. Napredak u razumijevanju kronične boli naglašava ulogu periferne i središnje senzibilizacije, te pojavu nociplastične boli - rezultat promijenjene obrade središnjeg živčanog sustava. Ova teorija priznaje utjecaj poremećaja raspoloženja, okolišnih stresora i kognitivnih obrazaca, otkrivajući zamršenu međuigru između bioloških, psiholoških i društvenih od-

rednica boli. Istraživanja naglašavaju ključnu ulogu mozga u percepciji boli, naglašavajući važnost sveobuhvatnog pristupa u liječenju kronične boli (47).

Akutna se bol povezuje s akutnom upalom, ali nakon te akutne faze dolazi do periferne i centralne senzitivizacije i amplifikacije novih bolnih podražaja (48). Ako bol, posebno muskuloskeletna traje dulje od 3 mjeseca dolazi do endogene modulacije odgovora koji je sada pod utjecajem stresa, prethodnog iskustva i sugestije, te može dovesti do promjena u ponašanju, depresije, anksioznosti i lošije kvalitete života (49,50). Prema nekim podacima preko 20 % djece s reumatskim bolestima ima kroničnu bol, a ženski spol, lošija kvaliteta života općenito i entezitis u bolesnika s JIA predstavljaju prediktivne čimbenike razvoja kronične boli (44, 51).

Procjena boli u djece s reumatskim bolestima

Za procjenu boli potrebni su validirani instrumenti koji su prilagođeni djeci s kroničnim bolestima (50). Trenutačno postoji nekoliko takvih alata za samoprocjenu boli kao što je Varni/Thompsonov pedijatrijski upitnik o boli (PPQ, engl. *Pediatric Pain Questionnaire*) multidimenzionalan upitnik koji se često koristi u pedijatrijskoj reumatologiji i koji kombinira vizualnu analognu skalu, mapu tijela i opisne karakteristike boli, a provodi se strukturiranim intervjuom samog bolesnika (52, 53). U svakodnevnom kliničkom radu korisna je Oucherova ljestvica prema izrazu lica, ona je razvijena u SAD i prilagođena etničkim skupinama, ima 6 izraza lica i numeričku skalu od 11 točaka od 0-100 (54, 55). Zatim je razvijen tzv. „termometar boli“ (56, 57). Uz to postoje i mape tijela koje olakšavaju razgovor s djetetom. Od svega je najviše u upotrebi 100 mm vizualna analogni skala sa 6 crteža izraza lica i bodovanjem od 1-10 koja predstavlja lako dostupno, jednostavno oruđe procjene boli. Moguće je usporediti rezultate dobivene od djeteta i roditelja/skrbnika i liječnika (50). To sve treba nadopuniti adekvatnim anamnestičkim podacima o vrsti, intenzitetu, karakteru i trajanju boli te komparirati s informacijama dobivenim od roditelja.

Metode ublažavanje kronične boli

Liječenje boli može biti farmakološko, ali se svaka analgetska intervencija treba koristiti uz multidisciplinarni pristup (58, 59). Lijekovi koji se mogu koristiti, s promjenjivim uspjehom, uključuju tricikličke antidepresive, NSAID, opioide, antikonvulzive i glukokortikoide (60, 61). Postoje podaci o simpatičkoj blokadi i primjeni injekcija botulinum toksina kod lokalizirane mišićne boli, ali su oni za dječju populaciju oskudni i neinformativni (62, 63). U akutnoj fazi boli protuupalno liječenje osnovne bolesti uz analgetike može imati dobar uspjeh. Kada bol postane kronična, farmakološko liječenje ima manje uspjeha, ali se mogu uključiti druge metode. Postoji nekoliko pravaca kojima se može djelovati na bol u djece s reumatskim bolestima.

Psihologijske intervencije imaju promjenjivi uspjeh. Biofeedback uz fizikalnu terapiju i edukaciju umjereno je smanjio bol mjerenu VAS (64, 65). Kognitivno-bihevioralna terapija je strukturirana intervencija samoupravljanja koja podučava mješavinu kognitivnih (odvrćanje pažnje, vođene slike, kognitivno restrukturiranje) i bihevioralnih (ritam aktivnosti, ugodne aktivnosti, trening opuštanja) strategija za poboljšanje suočavanja, povećanje funkcioniranja i smanjenje boli kod bolesnika s reumatološkim bolestima (66). Ova terapija je u bolesnika s JIA i joSLE dovela tek do blažeg poboljšanja kvalitete života i manje boli, za razliku od odraslih gdje je ta metoda poprilično uspješna (67, 68). Od metoda fizikalne terapije masaža je imala bolji utjecaj na bol od relaksacijskih vježbi, ali i na funkcionalne sposobnosti i kvalitetu života (69, 70). Vježbe snage u kombinaciji s vježbama ravnoteže i propriocepcije su bile jednako učinkovite u smanjivanju osjećaja boli i funkcionalne sposobnosti (71). Slično je s pilates vježbama i vježbama u vodi (65, 72). Klasične vježbe snage i izdržljivosti u teretani nisu utjecale na bol (73). Vježbe koje vraćaju mišićnu snagu i masu, povećavaju opseg pokreta i pridonose općoj kondiciji svakako treba uključiti u rehabilitacijski proces djece oboljele od reumatskih bolesti, ali nam podaci iz literature pomažu u izboru modaliteta vježbanja koji će dodatno popraviti i simptome poput boli i umora.

Korištenje komplementarne i alternativne medicine je u porastu i u dječjoj populaciji. Od svih metoda najviše podataka ima o učinkovitosti aku-

punkture i masaže u olakšavanju kronične boli (74). Potrebno je savjetovati roditelje o izboru certificiranih stručnjaka za ove metode.

UMOR

Umor je, kao i bol višedimenzionalan koncept. Definiramo ga kao simptom povezan s tjelesnim naporom, mentalnim naporom ili bolesti, a definira se kao osjećaj stalne iscrpljenosti i nedostatka energije (75). Ako se ne razriješi odmorom i snom, s vremenom negativno utječe na svakodnevno funkcioniranje i kvalitetu života. Danas je razvijen tzv. transdijagnostički pristup po kojem kliničari traže generičke čimbenike izvan bioloških karakteristika bolesti koji povezuju umor s kognitivnim, emocionalnim, motivacijskim čimbenicima i kvalitetom sna (76).

Umor i reumatske bolesti dječje dobi

Podaci za odrasle bolesnike s reumatskim bolestima govore da ih se čak do 80 % žali na umor koji ih ometa u svakodnevnom životu (76). Iscrpljujući umor javlja se u 25,1 % adolescenata s reumatskim bolestima, povezuje se s intenzitetom boli, raspoloženjem, lošijom kvalitetom života, ograničenim sudjelovanjem u nastavi, sportu i drugim izvanškolskim aktivnostima (78-80). Umor je simptom koji se pojavljuje u svim reumatskim bolestima dječje dobi, a incidencija mu je 60-76 % u bolesnika s JIA i 30-74 % bolesnika sa SLE (79, 81). Bolesnici s JIA se češće žale na umor i posljedično tomu na loš san, pojačani osjet boli i smanjenu kvalitetu života (77). Pojava umora je značajno veća u odnosu na zdravu populaciju vršnjaka (82). Neki autori uzrok umora povezuju s aktivnom upalom, aktivnosti bolesti i lijekovima kao što su metotreksat, međutim on se javlja i u bolesnika koji imaju nisku aktivnost bolesti ili su u remisiji (82). Studija *Nijhofa i sur.* koja je uključila bolesnike s JIA, JDM i SLE pokazala je povezanost umora s bolovima i dobi djeteta, ali ne sa stupnjem aktivnosti bolesti (77). Slične rezultate dobile su još dvije grupe autora iz SAD (83, 84). To potvrđuje postojanje psihosocijalnih čimbenika koji izlaze iz okvira bioloških karakteristika bolesti, a imaju važnu ulogu u nastanku ovog simptoma. U psihosocijalne čimbenike ubrajamo sposobnost suočavanja s tegobama, kognitivne, emotivne i motivacijske karakteristike osobnosti, kvalitetu sna i način života općenito (85).

Procjena umora u djece s reumatskim bolestima

Postoji niz mjera za procjenu umora kod djece, ali je tek mali dio evaluiran kao instrument koji se može pouzdano koristiti. Zato je važno odabrati adekvatan upitnik koji je prilagođen djeci s kroničnim bolestima. U studijama se najčešće koriste:

- višedimenzionalna skala umora pedijatrijske kvalitete života (PEDsQL-MFS, engl. *Pediatric Quality of Life Multidimensional fatigue scale*) (86),
- skala težine dječjeg umora (K-FSS, engl. *Kids Fatigue Severity Scale*) (87),
- multidimenzionalni indeks umora (MFI20, engl. *Multidimensional Fatigue Inventory*) (88),
- kontrolna lista individualne snage (CIS20, engl. *Checklist for Individual Strength*) (89),
- PROMIS obrazac za samoprocjenu umora (PROMIS, engl. *Patient Reported Outcomes Measurement Information System*) (90),
- vizualno analogni mjerilo (VAS) od deset centimetara (91).

Zbog ograničenog broja upitnika prilagođenih na hrvatski jezik, najčešće se upotrebljava VAS skala ili npr. upitnik psihosomatskih simptoma za djecu i adolescente (PSS) i MFI20 koji je preveden na hrvatski jezik.

Postupci za smanjenje umora u djece s reumatskim bolestima

Europsko reumatološko društvo (EULAR, engl. *European Alliance of Associations for Rheumatology*) je 2023. godine donijelo preporuke za liječenje umora. Usuglasili su se oko četiri načela i četiri preporuke za liječenje umora (92). Načela su:

1. zdravstveni radnici moraju biti svjesni da je kod bolesnika s reumatskim bolestima umor posljedica bioloških, psiholoških i socijalnih čimbenika
2. umor mora redovito procjenjivati i pratiti
3. odabir terapijske opcije je zajednička odluka medicinskog tima i bolesnika
4. mora se uvijek uzeti u obzir aktivnost bolesti, komorbiditeti, individualni psihosocijalni čimbenici i želje bolesnika.

Preporuke su sljedeće:

1. procjena umora mora biti dio kontrolnog pregleda
2. svakom se bolesniku mora omogućiti pristup individualiziranoj fizikalnoj terapiji i tjelesnoj aktivnosti,
3. svaki bolesnik mora imati pristup psihoedukativnim metodama
4. ukoliko dođe do pogoršanja umora, potrebno je reevaluirati samu bolest i medikamentozno liječenje

Podataka o mjerama kojima se može smanjiti umoru djece je malo, prve diskusije su krenule tijekom Pedijatrijskog europskog reumatološkog kongresa 2019.g., a potaknule su ga udruge roditelja djece oboljele od reumatskih bolesti. Trenutačno dostupni literaturni podaci govore o desetak publikacija o mjerama suzbijanja umora i to posebno dizajniranim vježbama, lijekovima i kognitivno bihevioralnim metodama (93). Potrebno je početi s liječenjem prije nego umor pređe u kronično stanje. Medikamentozno liječenje umora kod djece s reumatskim bolestima je temeljeno na osnovnim lijekovima iz grupe nesteroidnih anti-reumatskih lijekova, i uglavnom se prilagođavaju doze. Vrlo rijetko se poseže s lijekovima drugog mehanizma, npr. opioidima, pogotovo od kada je poznato da je umor multidimenzionalan simptom. Sve se više govori o komplementarnim metodama poput strukturirane tjelesne aktivnosti i psiholoških intervencija. Utjecaj posebno izrađenih programa tjelesnog vježbanja, aerobnih vježbi i vježbi snage imali su različiti uspjeh. Houghon i sur su dokazali statistički značajno smanjenje umora nakon uključivanja bolesnika s JIA u program kućnog vježbanja, ostali podaci nisu bili toliko uvjerljivi (94-97). Glukokortikoidi i suplementacija vitamina D kod bolesnika s JIA i SLE je bila učinkovita, a dodatak kreatinina kod djece s JDM nije pokazao značajnije poboljšanje subjektivnih simptoma, ali je poboljšao mišićni metabolizam (87, 91, 98). Psihološke intervencije poput kognitivno-bihevioralnih metoda za bolesnike sa SLE (TEACH, engl. *Treatment and Education Approach for Childhood-Onset Lupus*) ili FITNET- "online" programa za bolesnike s JIA imale su pozitivni učinak na smanjenje osjećaja umora čak neovisno o dužini trajanja i intenzitetu intervencija (89). Kombinacija psihološke samopomoći i nutricionističke intervencije osmišljene u Nizozemskoj do-

vela je do klinički relevantnog poboljšanja. Nakon analize vrste i trajanja umora, tjelesne aktivnosti, prehrambenih navika i aktivnosti bolesti, bolesnicima su ponuđeni programi samopomoći i nutritivne intervencije uz pomoć aplikacije na pametnim telefonima i pristup nacionalnim nutritivnim preporukama. Nakon 12 tjedana došlo je do poboljšanja u svim parametrima (75). Potrebno je napomenuti da je studija malo s malo uključenih bolesnika pa su podaci ograničeni. Zbog činjenice da su djeca znatiželjna i prilagodljiva, mogla bi prihvatiti i ove komplementarne metode u svrhu poboljšanja kvalitete života.

ZAKLJUČAK

Nutritivni status, bol i umor su stanja koja se ne smiju zanemariti u liječenju bolesnika s reumatskim bolestima. Procjena zahtjeva dodatna trud i vrijeme, te poznavanje alata za njezino provođenje. Sveobuhvatni i multidisciplinarni pristup koji uključuje medikamentozno liječenje, fizikalnu terapiju, psihološku potporu, adekvatnu nutritivnu potporu i strukturirano bavljenje tjelesnom aktivnosti osigurat će poboljšanja zdravstvenog stanja, psihološke otpornosti i kvalitete života djece oboljele od reumatskih bolesti.

LITERATURA

1. Song HM. Keeping up with the progress in the diagnosis and management of pediatric rheumatic diseases. *World J Pediatr.* 2020 Feb;16(1):1-4.
2. Schiettecatte E, Jans L, Jaremko JL, Chen M, Vande Walle C, Herregods N. MR Imaging of Rheumatic Diseases Affecting the Pediatric Population. *Semin Musculoskelet Radiol.* 2021 Feb;25(1):82-93.
3. Ogbu EA, Brunner HI. Treatment Guidelines in Pediatric Rheumatic Diseases. *Rheum Dis Clin North Am.* 2022 Aug;48(3):725-746.
4. van Royen-Kerkhof A, Vastert BS, Swart JF, Wulffraat NM. Biologic treatment of pediatric rheumatic diseases: are we spoilt for choice? *Immunotherapy.* 2014;6(1):1-3.
5. Lewandowski LB. Tackling global challenges in pediatric rheumatology. *Curr Opin Rheumatol.* 2020 Sep;32(5):414-420.
6. Fernández-Lázaro D, Seco-Calvo J. Nutrition, Nutritional Status and Functionality. *Nutrients.* 2023 Apr 18;15(8):1944.
7. Więch P, Sałacińska I, Bazaliński D, Dąbrowski M. Body composition and phase angle as an indicator of nutritional

- status in children with juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2018 Dec 27;16(1):82.
8. Little EM, Grevich S, Huber JL, et al. Parental Perception of Dietary Intervention in Juvenile Idiopathic Arthritis. *J Altern Complement Med*. 2019 Jun;25(6):643-647.
 9. Więch P, Ćwirlej-Sozańska A, Wiśniowska-Szurlej A et al. The Relationship Between Body Composition and Muscle Tone in Children with Cerebral Palsy: A Case-Control Study. *Nutrients*. 2020 Mar 24;12(3):864.
 10. Więch P, Bazaliński D, Salacińska I, et al. Decreased Bioelectrical Impedance Phase Angle in Hospitalized Children and Adolescents with Newly Diagnosed Type 1 Diabetes: A Case-Control Study. *J Clin Med*. 2018 Dec 4;7(12):516.
 11. Serón-Arbeloa C, Labarta-Monzón L, Puzo-Foncillas J, et al. Malnutrition screening and assessment. *Nutrients*. 2022;14(12):2392.
 12. Bolayir B, Arik G, Yeşil Y, et al. Validation of nutritional risk screening-2002 in a hospitalized adult population. *Nutr Clin Pract*. 2019;34(2):297-303.
 13. Fructuoso I, Romão B, Han H, et al. An overview on nutritional aspects of plant-based beverages used as substitutes for cow's milk. *Nutrients*. 2021 Jul 30;13(8):2650.
 14. Simon D, Fernando C, Czernichow P, Prieur AM. Linear growth and final height in patients with systemic juvenile idiopathic arthritis treated with longterm glucocorticoids. *J Rheumatol*. 2002 Jun;29(6):1296-300.
 15. Guzman J, Kerr T, Ward LM, et al. Growth and weight gain in children with juvenile idiopathic arthritis: results from the ReACCh-Out cohort. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2017 Aug 22;15(1):68.
 16. McErlane F, Carrasco R, Kearsley-Fleet L, et al. Growth patterns in early juvenile idiopathic arthritis: results from the Childhood Arthritis Prospective Study (CAPS). *Semin Arthritis Rheum*. 2018 Aug;48(1):53-60.
 17. Consolaro A, Giancane G, Alongi A, et al. Paediatric Rheumatology International Trials Organisation. Phenotypic variability and disparities in treatment and outcomes of childhood arthritis throughout the world: an observational cohort study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2019 Apr; 3(4):255-263.
 18. Bechtold S, Simon D. Growth abnormalities in children and adolescents with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int*. 2014 Nov;34(11):1483-8.
 19. Knops N, Wulffraat N, Lodder S, Houwen R, de Meer K. Resting energy expenditure and nutritional status in children with juvenile rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1999 Sep;26(9):2039-43.
 20. Caetano MC, Ortiz TT, Terreri MT, et al. Inadequate dietary intake of children and adolescents with juvenile idiopathic arthritis and systemic lupus erythematosus. *J Pediatr (Rio J)*. 2009 Nov-Dec;85(6):509-15.
 21. Grönlund MM, Kaartoaho M, Putto-Laurila A, Laitinen K. Juvenile idiopathic arthritis patients with low inflammatory activity have increased adiposity. *Scand J Rheumatol*. 2014;43(6):488-92.
 22. Little EM, Grevich S, Huber JL, et al. Parental Perception of Dietary Intervention in Juvenile Idiopathic Arthritis. *J Altern Complement Med*. 2019 Jun;25(6):643-647.
 23. Bacon MC, White PH, Raiten DJ, et al. Nutritional status and growth in juvenile rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum*. 1990 Oct;20(2):97-106.
 24. Gorczyca D, Postępski J, Czajkowska A, et al. The profile of polyunsaturated fatty acids in juvenile idiopathic arthritis and association with disease activity. *Clin Rheumatol*. 2017 Jun;36(6):1269-1279.
 25. Zhong Y, Wang Y, Guo J, Chu H, Gao Y, Pang L. Blueberry Improves the Therapeutic Effect of Etanercept on Patients with Juvenile Idiopathic Arthritis: Phase III Study. *Tohoku J Exp Med*. 2015 Nov;237(3):183-91.
 26. Martino S, Pappagallo G, Ravelli A, Taddio A, Zulian F, Cimaz R; Rheumatology Italian Study Group. Methotrexate in juvenile idiopathic arthritis: advice and recommendations from the MARAJIA expert consensus meeting. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2018 Jul 11;16(1):46.
 27. Onel KB, Horton DB, Lovell DJ, et al. 2021 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis: Therapeutic Approaches for Oligoarthritis, Temporomandibular Joint Arthritis, and Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2022 Apr;74(4):521-537.
 28. Yasser SA, Hashaad NI, Shouzan AM, el Nouty HA. Measurement of Serum Trace Elements Levels in Patients with Juvenile Idiopathic Arthritis. *Egypt Rheumatol Rehabil*. 2016;43:59-66.
 29. Lin Z, Li W. The Roles of Vitamin D and Its Analogs in Inflammatory Diseases. *Curr Top Med Chem*. 2016;16(11): 1242-61.
 30. Rusu TE, Murgu A, Moraru E, et al. Osteopenia la copii cu artrită juvenilă idiopatică [Osteopenia in children with juvenile idiopathic arthritis]. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 2008 Jan-Mar;112(1):88-93.
 31. Chevalley T, Brandi ML, Cashman KD, et al. Role of vitamin D supplementation in the management of musculoskeletal diseases: update from an European Society of Clinical and Economical Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases (ESCEO) working group. *Aging Clin Exp Res*. 2022 Nov;34(11):2603-2623.
 32. Lovell DJ, Glass D, Ranz J, et al. A randomized controlled trial of calcium supplementation to increase bone mineral density in children with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006 Jul;54(7):2235-42.
 33. Dağdeviren-Çakır A, Arvas A, Barut K, Gür E, Kasapçopur Ö. Serum vitamin D levels during activation and remission periods of patients with juvenile idiopathic arthritis and familial Mediterranean fever. *Turk J Pediatr*. 2016;58(2): 125-131.

34. Çomak E, Doğan ÇS, Uslu-Gökçeoğlu A, et al. Association between vitamin D deficiency and disease activity in juvenile idiopathic arthritis. *Turk J Pediatr*. 2014 Nov-Dec;56 (6):626-31.
35. Stawicki MK, Abramowicz P, Sokolowska G, Wolejszo S, Grant WB, Konstantynowicz J. Can vitamin D be an adjuvant therapy for juvenile rheumatic diseases? *Rheumatol Int*. 2023 Nov;43(11):1993-2009.
36. Wilson A, Yu HT, Goodnough LT, Nissenson AR. Prevalence and outcomes of anemia in rheumatoid arthritis: a systematic review of the literature. *Am J Med*. 2004 Apr 5;116 Suppl 7A:50S-57S.
37. Martini A, Ravelli A, Di Fuccia G, Rosti V, Cazzola M, Barosi G. Intravenous iron therapy for severe anaemia in systemic-onset juvenile chronic arthritis. *Lancet*. 1994 Oct 15; 344(8929):1052-4.
38. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med*. 2005 Mar 10;352(10):1011-23.
39. Armitage AE, Eddowes LA, Gileadi U, et al. Hepcidin regulation by innate immune and infectious stimuli. *Blood*. 2011 Oct 13;118(15):4129-39.
40. Weiss G, Schett G. Anaemia in inflammatory rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2013 Apr;9(4):205-15.
41. Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Sep;1823(9):1434-43.
42. Cazzola M, Ponchio L, de Benedetti F, et al. Defective iron supply for erythropoiesis and adequate endogenous erythropoietin production in the anemia associated with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *Blood*. 1996 Jun 1;87(11):4824-30.
43. Zare N, Mansoubi M, Coe S, et al. An investigation into the relationship between nutritional status, dietary intake, symptoms and health-related quality of life in children and young people with juvenile idiopathic arthritis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pediatr*. 2023 Jan 2;23(1):3.
44. Pascali M, Matera E, Craig F, et al. Cognitive, emotional, and behavioral profile in children and adolescents with chronic pain associated with rheumatic diseases: A case-control study. *Clin Child Psychol Psychiatry*. 2019 Jul;24 (3):433-445.
45. Sonagra M, Jones J, McGill M, Gmuca S. Exploring the intersection of adverse childhood experiences, pediatric chronic pain, and rheumatic disease. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2022 Feb 14;20(1):14.
46. Birket-Smith M. Somatization and chronic pain. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2001 Oct;45(9):1114-20.
47. Minhas D. Pain mechanisms for the practicing rheumatologist. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2024 Mar;38(1): 101942.
48. Munro J, Singh-Grewal D. Juvenile idiopathic arthritis and pain -- more than simple nociception. *J Rheumatol*. 2013 Jul;40(7):1037-9.
49. Balague F, Dutoit G, Waldburger M. Low back pain in school-children. *Scand J Rehabil Med*. 1988;20:175-9.
50. Anthony KK, Schanberg LE. Pediatric pain syndromes and management of pain in children and adolescents with rheumatic disease. *Pediatr Clin North Am*. 2005 Apr;52 (2):611-39.
51. McGrath T, Guzman J, Tucker L, et al. Research in Arthritis in Canadian Children Emphasizing Outcomes (ReACCh-Out) Investigators. Predictors of persisting pain in children with Juvenile Idiopathic Arthritis: a case control study nested in the ReACCh-Out cohort. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2023 Sep 16;21(1):102.
52. Varni JW, Thompson KL, Hanson V. The Varni/Thompson Pediatric Pain Questionnaire. I. Chronic musculoskeletal pain in juvenile rheumatoid arthritis. *Pain*. 1987;28:27-38.
53. Schanberg LE, Sandstrom MJ. Causes of pain in children with arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 1999;25:31-53.
54. Beyer JE, Denyes MJ, Villarruel AM. The creation, validation, and continuing development of the Oucher: a measure of pain intensity in children. *J Pediatr Nurs*. 1992;7: 335-46.
55. Beyer JE, Villarruel AM, Denyes MJ. The Oucher. The new user's manual and technical report. Denver: University of Colorado Health Science Center; 1993.
56. Dahlquist LM, Gil KM, Armstrong FD, et al. Preparing children for medical examinations: the importance of previous medical experience. *Health Psychol*. 1986;5:249-59.
57. Perquin CW, Hazebroek-Kampschreur AAJM, Hunfeld JAM, et al. Pain in children and adolescents: a common experience. *Pain*. 2000;87:51-8.
58. McGrath PA. An assessment of children's pain: a review of behavioral, physiological and direct scaling techniques. *Pain*. 1987 Nov;31(2):147-176.
59. Stanton-Hicks M. Complex regional pain syndrome. *Anesthesiol Clin North Am*. 2003 Dec;21(4):733-44.
60. van de Vusse AC, Stomp-van den Berg SG, Kessels AH, Weber WE. Randomised controlled trial of gabapentin in Complex Regional Pain Syndrome type 1 [ISRCTN84 121379]. *BMC Neurol*. 2004 Sep 29;4:13.
61. Crofford LJ. Pain management in fibromyalgia. *Curr Opin Rheumatol*. 2008 May;20(3):246-50.
62. Mailis A, Furlan A. Sympathectomy for neuropathic pain. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(2):CD002918.
63. Gordon N. Reflex sympathetic dystrophy. *Brain Dev*. 1996 Jul-Aug;18(4):257-62.
64. Eid MA, Aly SM, El-Shamy SM. Effect of electromyographic biofeedback training on pain, quadriceps muscle strength, and functional ability in juvenile rheumatoid arthritis. *Am J Phys Med Rehabil*. 2016 Dec;95(12):921-930.
65. Stinson JN, McGrath PJ, Hodnett ED, et al. An internet-based self-management program with telephone support for adolescents with arthritis: a pilot randomized controlled trial. *J Rheumatol*. 2010 Sep;37(9):1944-52.

66. Burckhardt CS, Goldenberg DL, Crofford L, et al. Guidelines for the management of fibromyalgia syndrome pain in adults and children. APS Clinical Practice Guidelines Series. Glenview, IL: American Pain Society; 2005.
67. Lomholt JJ, Thastum M, Christensen AE, et al. Cognitive behavioral group intervention for pain and well-being in children with juvenile idiopathic arthritis: a study of feasibility and preliminary efficacy. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2015 Aug 21;13:35.
68. Brown RT, Shaftman SR, Tilley BC, et al. The health education for lupus study: a randomized controlled cognitive-behavioral intervention targeting psychosocial adjustment and quality of life in adolescent females with systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci*. 2012 Oct; 344(4):274-82.
69. Field T, Hernandez-Reif M, Seligman S, et al. Juvenile rheumatoid arthritis: benefits from massage therapy. *J Pediatr Psychol*. 1997 Oct;22(5):607-17.
70. Tarakci E, Yeldan I, Baydogan SN, Olgar S, Kasapcopur O. Efficacy of a land-based home exercise programme for patients with juvenile idiopathic arthritis: a randomized, controlled, single-blind study. *J Rehabil Med*. 2012 Nov; 44(11):962-7.
71. Baydogan SN, Tarakci E, Kasapcopur O. Effect of strengthening versus balance-proprioceptive exercises on lower extremity function in patients with juvenile idiopathic arthritis: a randomized, single-blind clinical trial. *Am J Phys Med Rehabil*. 2015 Jun;94(6):417-24.
72. Inaggar RK, Elshafey MA. Effects of combined resistive underwater exercises and interferential current therapy in patients with juvenile idiopathic arthritis: A randomized controlled trial. *Am J Phys Med Rehabil*. 2016 Feb;95(2): 96-102.
73. Klepper SE. Effects of an eight-week physical conditioning program on disease signs and symptoms in children with chronic arthritis. *Arthritis Care Res*. 1999 Feb;12(1): 52-60.
74. Nijhof LN, Nap-van der Vlist MM, van de Putte EM, van Royen-Kerkhof A, Nijhof SL. Non-pharmacological options for managing chronic musculoskeletal pain in children with pediatric rheumatic disease: a systematic review. *Rheumatol Int*. 2018 Nov;38(11):2015-2025.
75. Vroegindewij A, Wulffraat NM, Van De Putte EM, et al. Targeting persistent fatigue with tailored versus generic self-management strategies in adolescents and young adults with a fatigue syndrome or rheumatic condition: A randomized crossover trial. *Br J Health Psychol*. 2024 Sep; 29(3):516-532.
76. Menting J, Tack CJ, Bleijenberg G, et al. Is fatigue a disease-specific or generic symptom in chronic medical conditions? *Health Psychol*. 2018 Jun;37(6):530-543.
77. Nijhof LN, van de Putte EM, Wulffraat NM, Nijhof SL. Prevalence of severe fatigue among adolescents with pediatric rheumatic diseases. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2016 Jan;68(1):108-14.
78. Armbrust W, Siers NE, Lelieveld OT, Mouton LJ, Tuinstra J, Sauer P. Fatigue in patients with juvenile idiopathic arthritis: A systematic review of the literature. *Semin Arthritis Rheum*. 2016 Apr;45(5):587-95.
79. Butbul Aviel Y, Stremler R, Benseler SM, et al. Sleep and fatigue and the relationship to pain, disease activity and quality of life in juvenile idiopathic arthritis and juvenile dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford)*. 2011 Nov;50 (11):2051-60.
80. Tarakçı E, Arman N, Barut K, et al. Fatigue and sleep in children and adolescents with juvenile idiopathic arthritis: A cross-sectional study. *Turk J Med Sci*. 2019 Feb 11;49 (1):58-65.
81. Tucker LB. Making the diagnosis of systemic lupus erythematosus in children and adolescents. *Lupus*. 2007;16: 546-9.
82. Wi D, Palermo TM, Stevens A, Ward TM. Sleep deficiency and symptoms of pain, fatigue, and depressed mood in youth with and without childhood systemic lupus erythematosus. *J Clin Sleep Med*. 2024 Oct 1;20(10):1607-1614.
83. Schanberg LE, Anthony KK, Gil KM, Maurin EC. Daily pain and symptoms in children with polyarticular arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003 May;48(5):1390-7.
84. Ringold S, Ward TM, Wallace CA. Disease activity and fatigue in juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013 Mar;65(3):391-7.
85. Nap-van der Vlist MM, Dalmeijer GW, Grootenhuys MA, et al. Fatigue among children with a chronic disease: A cross-sectional study. *BMJ Paediatr Open*. 2021 Feb 17;5(1): e000958.
86. Ridao-Manonellas S, Fábregas-Bofill A, Núñez-Rueda G, et al. Health-related quality of life and multidimensional fatigue scale in children with primary immunodeficiencies. *J Clin Immunol*. 2020 May;40(4):602-609.
87. Lima GL, Paupitz J, Aikawa NE, Takayama L, Bonfa E, Pereira RM. Vitamin D supplementation in adolescents and young adults with juvenile systemic lupus erythematosus for improvement in disease activity and fatigue scores: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2016 Jan;68(1):91-8.
88. Hilderson D, Moons P, Van der Elst K, Luyckx K, Wouters C, Westhovens R. The clinical impact of a brief transition programme for young people with juvenile idiopathic arthritis: results of the DON'T RETARD project. *Rheumatology (Oxford)*. 2016 Jan;55(1):133-42.
89. Fuchs CE, Van Geelen SM, Hermans HJ, et al. Psychological intervention for adolescents with juvenile idiopathic arthritis: for whom and when? *J Rheumatol*. 2013 Apr;40 (4):528-34.
90. Cunningham NR, Fussner LM, Moorman E, Avar Aydin PO, Brunner HI, Kashikar-Zuck S. Development and pilot test-

- ing of the treatment and education approach for childhood-onset lupus (TEACH): a cognitive behavioral treatment. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2019 Feb 18;17(1):9.
91. Kvien TK, Høyerdal HM, Sandstad B. Assessment methods of disease activity in juvenile rheumatoid arthritis--evaluated in a prednisolone/placebo double-blind study. *J Rheumatol.* 1982 Sep-Oct;9(5):696-702.
 92. Dures E, Farisoğulları B, Santos EJF, et al. 2023 EULAR recommendations for the management of fatigue in people with inflammatory rheumatic and musculoskeletal diseases. *Ann Rheum Dis.* 2024 Sep 30;83(10):1260-1267.
 93. Kant-Smits K, Van Brussel M, Nijhof S, Van der Net J. Reducing fatigue in pediatric rheumatic conditions: A systematic review. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2021 Jul 8;19(1):111.
 94. Habers GE, Bos GJ, van Royen-Kerkhof A, et al. Muscles in motion: A randomized controlled trial on the feasibility, safety and efficacy of an exercise training programme in children and adolescents with juvenile dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford).* 2016 Jul;55(7):1251-62.
 95. Houghton KM, Macdonald HM, McKay HA, Guzman J, Duffy C, Tucker L; LEAP Study Investigators. Feasibility and safety of a 6-month exercise program to increase bone and muscle strength in children with juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2018 Oct 22;16(1):67.
 96. Sule SD, Fontaine KR. Slow speed resistance exercise training in children with polyarticular juvenile idiopathic arthritis. *Open Access Rheumatol.* 2019 May 21;11:121-126.
 97. Samhan A, Mohamed N, Elnaggar R, Mahmoud W. Assessment of the clinical effects of aquatic-based exercises in the treatment of children with juvenile dermatomyositis: A 2x2 controlled-crossover trial. *Arch Rheumatol.* 2019 Oct 17;35(1):97-106.
 98. Dover S, Stephens S, Schneiderman JE, et al. The effect of creatine supplementation on muscle function in childhood myositis: A randomized, double-blind, placebo-controlled feasibility study. *J Rheumatol.* 2021 Mar;48(3):434-441.

Adresa za dopisivanje:

Prim. **Mandica Vidović**, dr. med.
Zavod za pedijatrijsku pulmologiju, alergologiju,
kliničku imunologiju i reumatologiju
Klinika za dječje bolesti Zagreb
Klaićeva ulica 16, Zagreb
e-mail: mandica.vidovic@kdb.hr

SUMMARY

Nutritional status, pain and fatigue in patients with rheumatic diseases

Mandica Vidović

Rheumatic diseases in children are one of the most common chronic diseases and are characterized by exacerbations and remissions with or without treatment. The underlying cause is an autoimmune disorder that involves the activation of innate and/or acquired immune responses resulting in chronic inflammation with the involvement of various tissues and organs. Focus on pathophysiological mechanisms, genetic basis, and treatment with the introduction of “biological” drugs that ensured fast remission led to the neglect of some aspects of health that can significantly affect daily functioning, education, schooling, and quality of life. Nutritional status, pain, and fatigue should be taken into account and routinely assessed at each visit. In this article, the main characteristics of nutritional status, pain, and fatigue in children with rheumatic disease and possible interventions are described.

Key words: CHILD; RHEUMATIC DISEASES; NUTRITIONAL STATUS; PAIN; FATIGUE

Novosti u dijagnostici i liječenju najčešćih sistemskih vaskulitisa dječje dobi

Marija Jelušić, Mario Šestan, Marijan Frković*

Vaskulitis je upalni proces koji zahvaća stijenke krvnih žila kao primarno mjesto upale, što može dovesti do oštećenja tkiva uslijed vaskularne stenoze, okluzije, aneurizme i/ili rupture. Najčešći sistemski vaskulitisi u djece jesu IgA vaskulitis (IgAV) i Kawasakijska bolest (KB). Gastrointestinalne komplikacije su najčešće akutne komplikacije IgAV dok je zahvaćenost bubrega (nefritis) najvažnija kronična komplikacija. Najvažnije novosti u području IgAV odnose se na praćenje bolesnika, pri čemu se izdvajaju djeca koja imaju veći rizik od nastanka nefritisa. To su djeca s IgAV koja su imala teške gastrointestinalne simptome (jaka bol u trbuhu, invaginacija, hematohezijska i/ili masivno gastrointestinalno krvarenje), djeca s teškim kožnim simptomima (ulceracije i nekroze, perzistentna purpura), djeca muškog spola i starije dobi pri postavljanju dijagnoze IgAV. Takvu djecu trebalo bi pratiti najmanje godinu dana. Prema revidiranim preporukama za dijagnozu KB na nju treba posumnjati u svakog djeteta s nerazjašnjenim febrilitetom u trajanju od 4 ili više dana, uz prisutnost četiri ili više kriterija: bilateralna injekcija konjunktiva, promjene u usnoj šupljini i na usnicama, polimorfni osip, limfadenopatija vrata, crvenilo dlanova i tabana, oticanje šaka i stopala u akutnoj fazi, te ljuštenje kože oko noktiju u kasnijim fazama. Prema novijim, revidiranim preporukama liječenje KB ne započinje se jednako u svih bolesnika, nego oni sa standardnim rizikom za nastanak aneurizmi koronarnih arterija trebaju primiti intravenske imunoglobuline i acetil-salicilnu kiselinu, a oni s visokim rizikom dodatnu protuupalnu terapiju, odnosno sistemske glukokortikoide ili blokatore TNF-alfa (infliksimab ili etanercept).

Ključne riječi: SISTEMSKI VASKULITIS; DIJETE; IGA VASKULITIS; KAWASAKIJEVA BOLEST; TAKAYASUOV ARTERITIS; VASKULITISI POVEZANI S ANCA PROTUTIJELIMA; NODOZNI POLIARTERITIS

UVOD

Vaskulitis je upalni proces koji zahvaća stijenke krvnih žila kao primarno mjesto upale, što može dovesti do oštećenja tkiva uslijed vaskularne stenoze, okluzije, aneurizme i/ili rupture (1). Osim re-

lativno čestih vaskulitisa kao što su IgA vaskulitis (IgAV) i Kawasakijska bolest (KB), većina primarnih sistemskih vaskulitisa rijetka je u djetinjstvu, ali je povezana sa značajnim morbiditetom i mortalitetom. Procjenjuje se da je godišnja incidencija sistemskih vaskulitisa u dječjoj dobi 50 na 100.000

*Klinika za pedijatriju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Klinički bolnički centar Zagreb, Zavod za imunologiju, reumatologiju, respiracijske i alergološke bolesti, Referentni centar za pedijatrijsku i adolescentnu reumatologiju Republike Hrvatske, Kišpatičeva 12, Zagreb

djece te da primarni vaskulitis čini približno 10 % svih pedijatrijskih stanja u pedijatrijskim reumatološkim klinikama, pri čemu IgAV sudjeluje s udjelom od oko 50 %, KB s oko 20 % dok su svi ostali vaskulitisi zastupljeni s oko 30 %. Postavljanje dijagnoze vaskulitisa često je izazovno, jer se radi o multisistemskim bolestima s uglavnom nespecifičnim simptomima. Često zahtijevaju integriranu skrb iz više subspecijalnosti, uključujući reumatologiju, dermatologiju, kardiologiju, nefrologiju, neurologiju, gastroenterologiju.

Izuzevši KB, za koju postoje dijagnostički, za ostale sistemske vaskulitise postoje samo klasifikacijski kriteriji koji se koriste za potrebe znanstvenih i epidemioloških istraživanja. Klasifikacija vaskulitisa je složena. O tome svjedoči činjenica da postoji nekoliko različitih sustava klasifikacije, svaki sa svojim prednostima i ograničenjima. Godine 1994. prva međunarodna konsenzusna konferencija o nomenklaturi sistemskih vaskulitisa u Chapel Hillu predložila je nazive i definicije za najčešće oblike vaskulitisa (2). Ovi nazivi i definicije revidirani su nakon druge međunarodne konsenzusne konferencije održane 2012. u Chapel Hillu (3). Oni se ne bi trebali koristiti za dijagnosticiranje bolesnika s vaskulitisom budući da su to definicije, a ne validirani klasifikacijski ili dijagnostički kriteriji. Za istaknuti je kako je najčešći sistemski vaskulitis u djece promijenio svoje ime iz Henoch-Schonleino-ve purpure u IgAV na temelju međunarodne konferencije u Chapel Hillu 2012. kao dio nove nomenklature sistemskih vaskulitisa čime je dodatno naglašena uloga imunoglobulina A1 (IgA1) u nastanku bolesti.

Radna skupina za vaskulitis Europskog društva za pedijatrijsku reumatologiju (PRES, engl. *Paediatric Rheumatology European Society*) 2008. godine predložila je kriterije klasifikacije za neke od najčešćih vaskulitisa u djece, uz potporu Europske alijanse društava za reumatologiju (EULAR, engl. *European Alliance of Associations for Rheumatology*) i Međunarodne organizacije za istraživanja u dječjoj reumatologiji (PRINTO, engl. *Paediatric Rheumatology International Trials Organisation*): IgAV, dječji nodozni poliarteritis (cPAN), dječja Wegenerova granulomatoza (cWG) (kasnije nazvana granulomatoza s poliangiitisom (GPA)), dječji Takayasuov arteritis (cTA) i KB (4). Kriteriji za klasifikaciju vaskulitisa u dječjoj dobi opet su se

temeljili na veličini krvnih žila uključujući kategorije kao što su vaskulitis pretežno velikih, srednje velikih i malih krvnih žila (granulomatozni i negranulomatozni) i drugi vaskulitisi.

U nastavku ovog teksta donosimo novosti vezane uz dijagnostiku i liječenje najčešćih sistemskih vaskulitisa dječje dobi: IgAV, KB, cTA, vaskulitis povezan s antineutrofilnim citoplazmatskim protutijelima (ANCA) te cPAN. Na kraju ćemo se ukratko osvrnuti i na novije otkrivene monogenske oblike vaskulitisa.

IgA VASKULITIS

Radi se o negranulomatoznoj upali malih krvnih žila (arteriola, kapilara i venula) koja s histološkog aspekta predstavlja infiltraciju stijenke malih krvnih žila neutrofilima, što može dovesti do nekroze (leukocitoklastični vaskulitis). Procijenjena godišnja incidencija bolesti iznosi 3–55,9 na 100.000 djece, a prevalencija 6,1–20,4 na 100.000 djece (5). Prosječna godišnja incidencija IgAV u našoj zemlji iznosi 6,79 na 100.000 djece, što je slično ostalim zemljama u Europi (6). Bolest se najčešće pojavljuje u dobi između 3 i 12 godina, a u odrasloj dobi mnogo je rjeđa te se IgA vaskulitis u toj populaciji smatra jednim od najrjeđih sistemskih vaskulitisa.

Naša je istraživačka skupina prva koja je koristila moderne geostatističke metode u ispitivanju epidemiologije IgAV pri čemu smo otkrili kako IgAV i nefritis povezan s IgAV (IgAVN) nisu nasumično raspoređeni u prostoru, već su više grupirani oko gradova te kako IgAVN pokazuje linearno grupiranje u istočnom dijelu Hrvatske, koji prati tok rijeka Drave i Dunava, u blizini područja balkanske endemske nefropatije, za koju se zna da se javlja prvenstveno zbog čimbenika okoliša (aristolohinska kiselina) (6). Time je ponovno otvoreno pitanje složene interakcije između različitih okolišnih i genskih čimbenika u etiopatogenezi IgAV.

Vezano uz genetiku, poznato je da ne postoji jedan gen čija bi mutacija uzrokovala pojavu bolesti, no na temelju dosad provedenih istraživanja najjača veza s IgAV pronađena je s genima unutar sustava humanih leukocitnih antigena (HLA), ponajprije s HLA lokusima klase II (7). Naši rezultati pokazali su da postoji povezanost alela *HLA-A*03*, *HLA-B*37* i *HLA-DRB1*12* s predispozicijom za IgAV u ispiti-

vanoj hrvatskoj pedijatrijskoj populaciji te značajno veću učestalost *HLA-DRB1*10:01i-DRB1*11:03* među bolesnicima s IgAV i gastrointestinalnim manifestacijama dok se *HLA-DRB1*14:01P* javlja značajno češće u skupini bolesnika koji su razvili IgAVN (8). Varijante u različitim genima izvan sustava HLA, koje su povezane s imunološkim i upalnim odgovorom (kao što su geni za citokine, kemokine, T limfocite) također mogu imati značaj u etiopatogenezi IgAV. Naše je istraživanje pokazalo kako su polimorfizmi proteina visoke pokretljivosti iz skupine 1 (HMGB1, engl. *high mobility group box 1*) rs41369348, rs1045411, rs2249825 i rs1412125 povezani s razvojem generaliziranog purpuričnog osipa, a rs1412125 povezan je s IgAVN (9).

Važno je naglasiti kako svi bolesnici s IgAV moraju imati kožne promjene, međutim, one ne moraju biti prisutne na početku bolesti. Bolest obično počinje kožnim promjenama, ali u oko 25 % bolesnika počinje artralgiom i/ili artritisom, a nakon 10–14 dana javljaju se kožne promjene. Bolovi u trbuhu ponekad mogu prethoditi kožnim promjenama i do dva tjedna, što stvara diferencijalno-dijagnostičke poteškoće (10). Kožne manifestacije obvezni su kriterij, najčešći i karakteristični znak bolesti. U većine djece kožne su promjene tipične: što se tiče izgleda, to su purpurične ili petehijalne promjene, a glede lokalizacije pretežno zahvaćaju donje ekstremitete, uključujući stražnjicu. U približno 3 % djece mogu se pojaviti teže promjene na koži, s hemoragičnim vezikulama i bulama koje napreduju do nekroze kože. Naša nedavna istraživanja pokazala su da se s povećanjem težine i trajanja kožnih manifestacija kod IgAV povećava rizik od razvoja IgAVN, što pogoršava prognozu, s većom vjerojatnošću da je potrebno agresivnije liječenje koje uključuje i sistemske glukokortikoide (11, 12). Prisutnost ulceracija i nekroza, perzistentna purpura (koja traje dulje od mjesec dana) i starija dob bili su značajni prediktori IgAVN.

Gastrointestinalne manifestacije prisutne su u više od 50 % djece s IgAV, a oko 10–20 % bolesnika sa zahvaćanjem gastrointestinalnog sustava mogu razviti ozbiljne komplikacije kao što su invaginacija, perforacija crijeva i masivno krvarenje (13). Naše nedavno istraživanje pokazalo je da su bolesnici u kojih je IgAV počeo s gastrointestinalnim simptomima i starija djeca s težim gastrointe-

stinalnim simptomima (jaka abdominalna bol, invaginacija, hematohezijska i/ili masivno gastrointestinalno krvarenje) posebno rizična skupina za razvoj IgAVN (14).

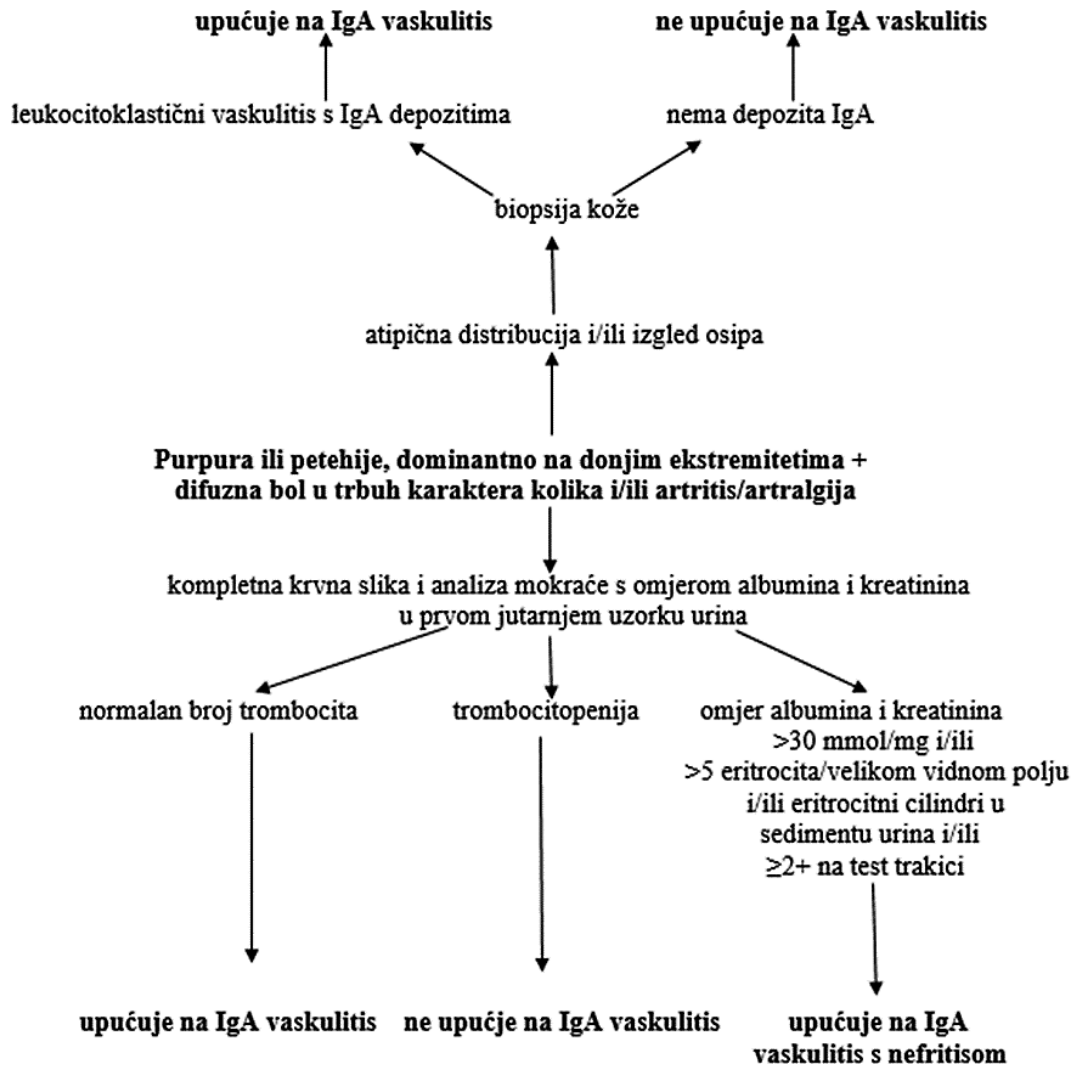
Zahvaćenost bubrega (nefritis) prisutna je u 20–60 % djece s IgAV. Nefritis se može manifestirati izoliranim poremećajima u mokraći (uključujući hematuriju i/ili proteinuriju) preko nefritičkog i nefrotskog sindroma do kroničnog zatajenja bubrega (15). U najvećeg broja bolesnika zahvaćanje bubrega je blago te se prepoznaje samo po patološkim nalazima urina. Međutim, kronično zatajenje bubrega zabilježeno je u 1 do 15 % djece s IgAVN, a u velikoj većini se dijagnosticira unutar 6 mjeseci od početka bolesti. Zbog toga je zahvaćanje bubrega najvažnija, a ujedno i jedina kronična komplikacija IgAV.

Postupnik za postavljanje dijagnoze IgAV prikazan je na Slici 1.

U svih bolesnika s IgAV treba izmjeriti krvni tlak i ispitati zahvaćenost bubrega korištenjem procijenjene brzine glomerularne filtracije i analize urina koja uključuje procjenu hematurije i proteinurije s omjerom proteina i kreatinina u mokraći ili omjerom albumina i kreatinina u prvom jutarnjem uzorku urina. Ako postoji hipertenzija, makroskopska hematurija ili značajna proteinurija, treba odrediti kompletnu krvnu sliku, ureju, serumski kreatinin i razine elektrolita, omjer proteina i kreatinina u urinu, albumin i testove koagulacije.

Biopsija kože nije obvezna, ali je treba učiniti u slučaju atipičnog izgleda i rasporeda kožnih promjena kao i u slučaju težih kožnih promjena (bule, nekroze, ulceracije) kako bi se isključili drugi oblici vaskulitisa.

Biopsija bubrega je zlatni standard za postavljanje dijagnoze nefritisa u sklopu IgA vaskulitisa. Biopsiju bubrega treba učiniti u bolesnika s teškom proteinurijom definiranom kao omjer proteina i kreatinina u mokraći >250 mg/mmol tijekom najmanje 4 tjedna i trajnom umjerenom proteinurijom definiranom kao omjer proteina i kreatinina u mokraći 100–250 mg/mmol tijekom najmanje 3 mjeseca ili >50 mg/mmol tijekom 6 mjeseci (16). Poremećena glomerularna filtracija (<80 ml/min/1,73 m²) također je apsolutna indikacija za bubrežnu biopsiju. Relativne indikacije uključuju nefritički i/ili nefrotski sindrom i/ili pogoršanje



Slika 1. Dijagnostički postupnik za postavljanje dijagnoze IgAV i IgAVN (prilagođeno prema referenci 13).

bubrežne funkcije (brzoprogresivni glomerulonefritis).

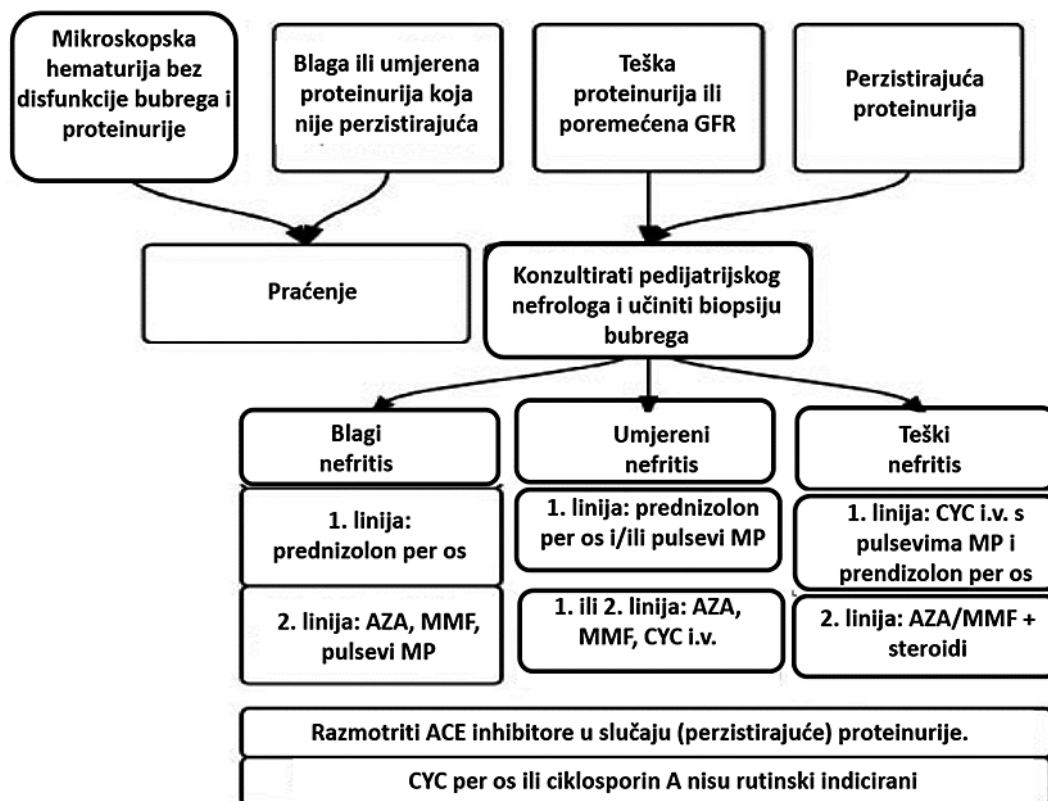
U analizi bioptata bubrega koristi se nekoliko histoloških klasifikacija, ali još nije poznato koja je najčvršće povezana s težinom i ishodom bolesti. Naša se istraživačka skupina zalaže za primjenu modificirane semikvantitativne klasifikacije finske grupe autora te revidirane Oxfordske klasifikacija zbog toga što prema rezultatima našeg međunarodnog istraživanja najbolje koreliraju s ishodom bolesti (17).

Osim analize urina, biopsije bubrega i kože, mogu biti potrebne i druge pretrage kako bi se isključile druge bolesti ako je dijagnoza nejasna.

U velikoj većini slučajeva IgAV dostatno je samo simptomatsko liječenje. Iznimke su bolesnici s težim kožnim i gastrointestinalnim manifestacijama te oni koji su razvili IgAVN ili zahvaćanje drugih

organa (pluća, središnji živčani sustav). U liječenju bolesnika s težim kožnim promjenama trenutno ne postoje preporuke no na temelju do sada provedenog najvećeg međunarodnog istraživanja pokazali smo kako je u većine ovih bolesnika dobar uspjeh postignut kratkotrajnom sistemskom primjenom glukokortikoida i nesteroidnih protuupalnih lijekova (12).

Inicijativa SHARE (engl. *Single Hub and Access point for paediatric Rheumatology in Europe*) donijela je konsenzusom smjernice za liječenje IgAV i IgAVN (16). U bolesnika s jakim bolovima u trbuhu ili gastrointestinalnim krvarenjem treba razmotriti primjenu glukokortikoida: peroralno u dozi 1–2 mg/kg/dan tijekom 1–2 tjedna, zatim prestati ili pulsne doze metilprednizolona, 10–30 mg/kg, najviše 1 g, tijekom tri uzastopna dana ako se radi o životno ugrožavajućem zahvaćanju gastrointestinalnog sustava ili nije bilo odgovora na peroralni



AZA: azatioprin, MMF: mikofenolat-mofetil, MP: metilprednizolon, CYC: ciklofosfamid, ACE: angiotenzin konvertaza

Slika 2. Preporuke za liječenje nefritisa u sklopu IgA vaskulitisa koje je donijela SHARE inicijativa (engl. *Single Hub and Access point for paediatric Rheumatology in Europe*) (prilagođeno prema referenci 16).

oblik liječenja. Postupnik liječenja IgAVN koji predlaže inicijativa SHARE prikazan je na Slici 2.

U međuvremenu, 2021. objavljene su revidirane smjernice KDIGO (engl. *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*), a 2024. objavljene su smjernice Međunarodnog društva za pedijatrijsku nefrologiju (IPNA, engl. *International Pediatric Nephrology Association*) (18, 19). Njihova usporedba prikazana je u Tablici 1.

Većina djece s IgAV potpuno će se oporaviti. Dugoročna prognoza bolesti je povoljna, a 94 % oboljele djece potpuno će se oporaviti unutar 2 godine. Predlaže se praćenje bolesnika s IgAV najmanje 6–12 mjeseci, čak i ako su početna mjerenja krvnog tlaka i analiza urina bili normalni (16). Ključni cilj za kontinuirano praćenje bolesti je rano otkrivanje zahvaćenosti bubrega. U praćenju bolesnika koristimo se mjerenjem krvnog tlaka i analizom urina – prisutnost hematurije i kvantifikacija albuminurije. Naša istraživačka skupina, na temelju do sada objavljenih publikacija i provedenih istraživanja, predlaže da se bolesnici s IgAV koji imaju veći rizik

od razvoja IgAVN prate najmanje godinu dana. To su djeca s IgAV koja su imala teške gastrointestinalne simptome (jaka bol u trbuhu, invaginacija, hematohezijska i/ili masivno gastrointestinalno krvarenje), djeca s teškim kožnim simptomima (ulceracije i nekroze, perzistentna purpura), djeca muškog spola i starije dobi pri postavljanju dijagnoze IgAV (11, 12, 14).

KAWASAKIJEVA BOLEST

KB predstavlja sistemski vaskulitis koji zahvaća arterije srednje veličine, a najčešće pogađa djecu mlađu od pet godina (20). U razvijenim zemljama vodeći je uzrok stečenih srčanih bolesti kod djece, prvenstveno zbog povezanosti s dilatacijama i aneurizmama koronarnih arterija. Razvojem novih saznanja promijenjene su smjernice za dijagnosticiranje i liječenje ove bolesti. Trenutno se najčešće koriste dijagnostički kriteriji Američkog udruženja za bolesti srca (AHA, engl. *American Heart Association*), dok su u uporabi i japanski kriteriji koje je

Tablica 1. Usporedba smjernica triju različitih međunarodnih društava za liječenje IgAVN (prema referencama 16, 18, 19)

Parametar	Preporuke SHARE	Preporuke KDIGO	Preporuke IPNA
Izolirana hematurija	Praćenje	Nema preporuka	Ne davati glukokortikoida
Blagi nefritis (normalan eGFR, blaga* ili umjerena** proteinurija)	Prednizon peroralno Inhibitori angiotenzin konvertaze ili blokatori angiotenzinskih receptora ako proteinurija perzistira dulje od 3 mjeseca Druga linija liječenja: azatioprin, mikofenolat mofetil ili pulsevi glukokortikoida	Inhibitori angiotenzin konvertaze ili blokatori angiotenzinskih receptora ako proteinurija perzistira dulje od 3 mjeseca	Razmotriti primjenu inhibitora angiotenzin konvertaze ili blokatora angiotenzinskih receptora Kada proteinurija iskazana omjerom proteina i kreatinina u porciji urina premaši 200 mg/mmol, provesti ciklus terapije glukokortikoidima per os ili kombinacijom pulsevima i peroralne terapije tijekom 3–6 mjeseci i dodati imunosupresiv (prednost mikofenolat mofetila ili mizorbina nad inhibitorima kalcineurina i ciklofosfamidom)
Umjereni nefritis (<50% polumjeseca u bioptatu burega i poremećen eGFR ili teška perzistentna proteinurija**)	Prednizon peroralno i/ili pulsevi glukokortikoida Inhibitori angiotenzin konvertaze ili blokatori angiotenzinskih receptora ako proteinurija perzistira dulje od 3 mjeseca Druga linija liječenja: azatioprin, mikofenolat mofetil ili ciklofosfamid intravenski	Prednizon ili prednizolon peroralno i/ili pulsevi glukokortikoida Inhibitori angiotenzin konvertaze ili blokatori angiotenzinskih receptora ako proteinurija perzistira dulje od 3 mjeseca	Razmotriti primjenu inhibitora angiotenzin konvertaze ili blokatora angiotenzinskih receptora Provesti ciklus terapije glukokortikoidima per os ili kombinacijom pulsevima i peroralne terapije tijekom 3–6 mjeseci i dodati imunosupresiv (prednost mikofenolat mofetila ili mizorbina nad inhibitorima kalcineurina i ciklofosfamidom)
Teški nefritis (>50% polumjeseca u bioptatu burega i poremećen eGFR ili teška perzistentna proteinurija)	Pulsevi ciklofosfamida, pulsevi glukokortikoida, potom glukokortikoidi per os Druga linija liječenja: azatioprin/mikofenolat mofetil + glukokortikoidi	Pulsevi glukokortikoida i ciklofosfamid Druga linija liječenja: plazmafereza?	Razmotriti primjenu inhibitora angiotenzin konvertaze ili blokatora angiotenzinskih receptora Provesti ciklus terapije glukokortikoidima per os ili kombinacijom pulsevima i peroralne terapije tijekom 3–6 mjeseci i dodati imunosupresiv (prednost mikofenolat mofetila ili mizorbina nad inhibitorima kalcineurina i ciklofosfamidom)

SHARE, engl. *Single Hub and Access point for paediatric Rheumatology in Europe*; KDIGO, engl. *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*; IPNA, engl. *International Pediatric Nephrology Association*

* blaga proteinurija prema preporukama SHARE: omjer proteina i kreatinina u prvoj jutarnjoj porciji urina <100 mg/mmol

** umjerena proteinurija prema preporukama SHARE: omjer proteina i kreatinina u prvoj jutarnjoj porciji urina 100–250 mg/mmol

*** teška perzistentna proteinurija prema preporukama SHARE: omjer proteina i kreatinina u prvoj jutarnjoj porciji urina >250 mg/mmol dulje od 4 tjedna

izradio Odbor za istraživanje KB pri japanskom Ministarstvu zdravstva (21, 22).

Do nedavno, dijagnoza klasičnog oblika KB zahtijevala je prisutnost vrućice koja traje najmanje pet dana, uz četiri od pet dodatnih kliničkih kriterija: obostrano crvenilo konjunktiva bez iscjetka, promjene na oralnoj sluznici (poput ispucalih usana, malinastog jezika ili crvenila ždrijela), promjene na ekstremitetima (crvenilo dlanova i tabana, oticanje šaka i stopala u akutnoj fazi, te ljuštenje kože oko noktiju u kasnijim fazama), polimorfni osip te povećanje cervikalnih limfnih (većih od 1,5 cm) (20).

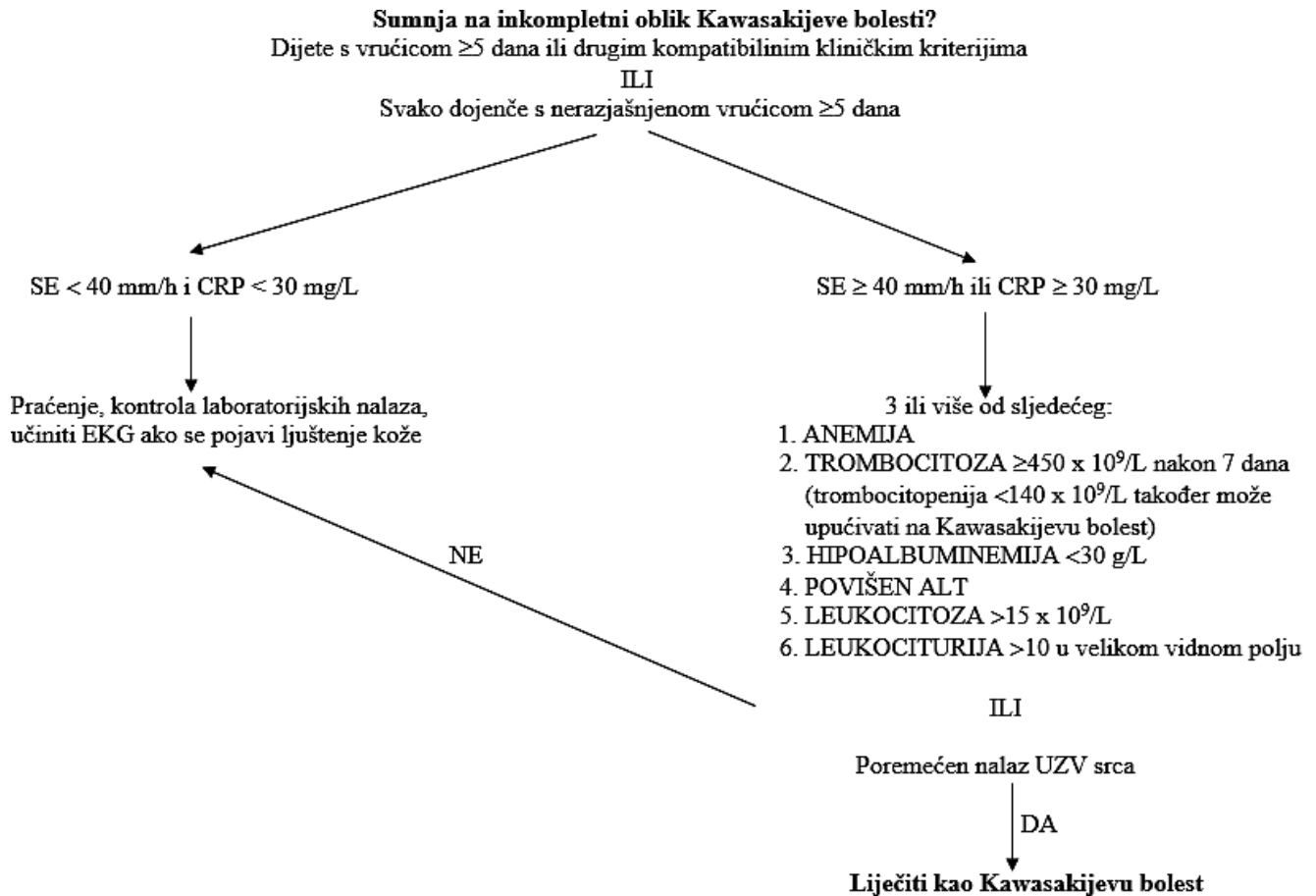
U smjernicama iz 2017. godine, AHA je omogućila dijagnozu i kod febriliteta koji traje najmanje četiri dana, pod uvjetom da su prisutna četiri od pet ključnih simptoma, osobito ako postoji crvenilo, oticanje dlanova ili tabana ili edem na ekstremitetima.

tima. Prema revidiranim smjernicama iz 2024. godine, vrućica od najmanje četiri dana postala je obavezan kriterij dok se dijagnoza može postaviti i

Tablica 2. Revidirani dijagnostički kriteriji AHA za klasični oblik Kawasakijske bolesti

Vrućica	Trajanje od 4 ili više dana uz 4 od 5 od sljedećeg:
1. Konjunktivitis	Bilateralna, bulbarna injekcija konjunktiva bez eksudata
2. Limfadenopatija	Cervikalna, često >1,5 cm, obično jednostrana
3. Osip	Makulopapularni, difuzna eritrodermija ili multiformni eritem
4. Promjene na usnicama i oralnoj sluznici	Crvene, ispucale usnice, malinast jezik ili difuzni eritem ždrijela
5. Promjene na ekstremitetima	Eritem ili edem dlanova i tabana u akutnoj fazi i periungvalno ljuštenje kože u subakutnoj fazi

Tablica preuzeta iz reference 21.



Slika 3. Postupnik za dijagnosticiranje nepotpunog oblika KB (prilagođeno prema referenci 26).

nakon tri dana povišene temperature ako tako procijeni iskusan kliničar (21), što je prikazano u Tablici 2. Japanske smjernice, međutim, ne zahtijevaju obvezno prisustvo vrućice. Dijagnoza je moguća i bez nje ako su prisutni svi kardinalni simptomi ili ako se ehokardiografijom utvrde koronarne aneurizme ili dilatacija (22).

Kriteriji za “nepotpuni” ili “atipični” oblik KB ostali su nepromijenjeni i navedeni su na Slici 3.

Poseban oblik bolesti, Kawasakijev šok sindrom, definiran je 2009. godine (23). Ovaj teški oblik bolesti javlja se u 5 – 7 % slučajeva i obilježen je znakovima kardiogenog ili distributivnog šoka, poput niskog krvnog tlaka, smanjene kapilarne perfuzije te, u nekim slučajevima, disfunkcije miokarda. Šok sindrom češći je u djevojčica, mlađe djece, bolesnika s nepotpunim oblikom bolesti ili teškim laboratorijskim odstupanjima, uključujući trombocitopeniju, visoki CRP, niske razine natrija, metaboličku acidozu i hipoalbuminemiju. Ova skupina bolesnika često zahtijeva agresivnije liječenje, uključujući dodatne doze intravenskih imunoglobulina (IVIG)

ili primjenu drugih lijekova poput glukokortikoida, infliksimaba ili anakinre, kako bi se smanjio rizik od komplikacija poput koronarne aneurizme ili produžene disfunkcije srca.

Još jedna ozbiljna komplikacija povezana s KB jest sindrom aktivacije makrofaga (MAS), rijetko, ali potencijalno smrtonosno stanje koje uključuje prekomjernu aktivaciju T-limfocita i makrofaga. Ovo stanje karakteriziraju citopenija, poremećaji jetrene funkcije, koagulopatija i izrazito visoke razine feritina (24). Učestalost MAS-a u djece s KB procjenjuje se na 1,1 – 1,9 %. Iako standardizirani kriteriji za MAS u kontekstu Kawasakijeve bolesti ne postoje, najčešće se koriste smjernice za MAS kod sistemskog oblika juvenilnog idiopatskog artritisa (25).

Za liječenje KB trenutačno postoje smjernice AHA revidirane 2024. godine, te preporuke SHARE inicijative iz 2019. godine (21, 26). Ove smjernice donose različite pristupe u inicijalnom liječenju ovisno o procjeni rizika. Usporedba ovih dviju smjernica prikazana je u Tablici 3.

Tablica 3. Usporedba smjernica dvaju društava za liječenje KB (prema referencama 21 i 26)

Parametar	Smjernice AHA	Smjernice SHARE
1. Inicijalno liječenje	Standardni rizik: acetil-salicilna kiselina + IVIG 2 g/kg Povećan rizik: acetil-salicilna kiselina + IVIG 2 g/kg + prednizolon ili metilprednizolon 2 mg/kg ili blokator TNF-alfa	Svi: acetil-salicilna kiselina + IVIG 2 g/kg
2. Doza acetil-salicilne kiseline	Srednje (30–50 mg/kg/dan) do visoke doze (80–100 mg/kg/dan) dok bolesnik ne postane afebrilan	30–50 mg/kg/dan dok bolesnik ne bude afebrilan 48 h, zatim reducirati na 3–5 mg/kg
3. Druga doza IVIG-a	Nije preferencijalna opcija. Ako bolesnik ne odgovori na prvu dozu IVIG-a, mogu se dati glukokortikoidi, blokatori TNF-alfa, inhibitori interleukina-1, ciklosporin, druga doza IVIG-a ili ciklofosfamid	Druga doza IVIG-a u diskreciji je nadležnog liječnika
4. Doziranje glukokortikoida	Prednizolon: 2 mg/kg/dan i.v. podijeljeno svakih 8 h tijekom 5 dana (maksimalno 60 mg/dan) tijekom hospitalizacije; zatim prednizolon 2 mg/kg/dan per os podijeljeno svakih 8 h; polagano smanjivanje tijekom 15 dana (maksimalno 30 mg/dozi) nakon što se CRP normalizira Metil-prednizolon: 2 mg/kg/dan i.v. podijeljeno svakih 12 h tijekom 5 dana (maksimalno 60 mg/dan) tijekom hospitalizacije; zatim prednizolon 2 mg/kg/dan per os podijeljeno svakih 12 h; kada je CRP <1 mg/dL, glukokortikoidi se postupno smanjuju tijekom 2–4 tjedna uz prepolovljenu dozu svakih 5 dana	- Shema 1: metilprednizolon 0.8 mg/kg x 2 i.v. tijekom 5–7 dana ili do normalizacije CRP-a; tada prelazak na peroralni prednizon/prednizolon 2 mg/kg/dan i smanjivanje doze tijekom 2–3 tjedna - Shema 2: metilprednizolon 10–30 mg/kg (maksimalno 1 g/dan) jednom dnevno tijekom 3 dana, a zatim prednizon/prednizolon 2 mg/kg na dan peroralno do 7 dana ili do normalizacije CRP-a; zatim smanjivanje tijekom 2–3 tjedna
5. Postupak kod neučinkovitosti prve linije liječenja	Mogu se dati glukokortikoidi, blokatori TNF-alfa, inhibitori interleukina-1, ciklosporin, druga doza IVIG-a ili ciklofosfamid	Primijeniti glukokortikoide prema shemi 1 ili 2. U bolesnika s perzistirajućom upalom usprkos primjeni IVIG-a, acetil-salicilne kiseline i glukokortikoida treba razmotriti primjenu blokatora TNF-alfa (infliksimaba) nakon konzultacije s ekspertnim centrom

Prema novim AHA preporukama, više se ne predlaže univerzalan pristup za sve pacijente s KB. Umjesto toga, bolesnici se kategoriziraju prema riziku za razvoj aneurizmi koronarnih arterija. Oni s visokim rizikom, poput dojenčadi mlađe od šest mjeseci, bolesnika s inicijalnim Z-skorom koronarnih arterija $\geq 2,5$ ili onih s ≥ 3 boda prema Sonovoj bodovnoj skali, trebaju odmah primiti intenziviranju terapiju s više lijekova. Za bolesnike niskog rizika, preporuke ostaju nepromijenjene, a osnovna terapija uključuje IVIG u dozi od 2 g/kg uz acetilsalicilnu kiselinu. AHA dopušta više doze acetilsalicilne kiseline (80 – 100 mg/kg dok pacijent ne postane afebrilan, zatim 3 – 5 mg/kg dnevno), dok SHARE preferira doze od 30 – 50 mg/kg podijeljene u tri do četiri davanja.

Za bolesnike visokog rizika, inicijalna terapija uključuje dodatni lijek poput sistemskog glukokortikoida (prednizolon ili metilprednizolon u dozi od 2 mg/kg) ili blokatora TNF-alfa (infliksimab jednokratno ili etanercept u tri doze). Ovo je ključna inovacija u novim smjernicama AHA. U bolesnika koji ne reagiraju na prvu dozu IVIG-a, AHA sada predlaže različite terapijske opcije, uključujući glu-

kokortikoide, blokatore TNF-alfa, inhibitore interleukina-1 (anakinru), ciklosporin, drugu dozu IVIG-a ili ciklofosfamid kod divovskih aneurizmi. SHARE smjernice omogućuju primjenu druge doze IVIG-a prema procjeni liječnika. Možemo zaključiti kako davanje druge doze IVIG-a više nije preferirana opcija liječenja.

Kod Kawasakijevog šok sindroma, AHA preporučuje intenziviranje terapije dodatkom glukokortikoida ili blokatora TNF-alfa uz osnovno liječenje IVIG-om i acetilsalicilnom kiselinom, zbog povećanog rizika od abnormalnosti koronarnih arterija i rezistencije na IVIG.

U liječenju aneurizmi koronarnih arterija, AHA preporučuje dodavanje klopogrela acetilsalicilnoj kiselini kod srednje velikih aneurizmi (Z-skor 5–10) i uvođenje antikoagulansa kod velikih aneurizmi (Z-skor ≥ 10). Noviji antikoagulansi, poput direktnih oralnih antikoagulansa, mogu biti sigurnija alternativa varfarinu ili niskomolekularnom heparinu.

Liječenje MAS-a u KB fokusira se na brzo smanjenje sistemske upale kako bi se spriječilo oštećenje organa. Standardne smjernice za MAS u kontek-

stu KB ne postoje, ali liječenje obično počinje visokim dozama glukokortikoida (30 mg/kg tri dana, zatim 2 mg/kg dnevno). Kod nedostatnog odgovora koristi se ciklosporin A, koji može brzo smanjiti simptome. Anakinra, inhibitor IL-1, također se pokazala učinkovitom u liječenju refraktornog MAS-a (27). Ključno je izbjeći prekomjerno liječenje citotoksičnim lijekovima, s obzirom na čest dobar odgovor na imunomodulatornu terapiju.

Sveukupno, revidirane AHA smjernice donose detaljniji i diferencirani pristup liječenju KB i njenih komplikacija, naglašavajući potrebu za individualizacijom terapije na temelju rizika i kliničkog odgovora.

TAKAYASUOV ARTERITIS

TA kronični je, idiopatski, granulomatozni vaskulitis velikih krvnih žila koji uglavnom zahvaća aortu i njezine primarne grane (28). Pretežno su zahvaćeni luk aorte, uzlazna aorta, torakalna silazna aorta i abdominalna aorta; rjeđe su zahvaćene plućne arterije. Kao posljedica upale stijenke krvnog žila nastaju zadebljanje stijenke, fibroza, stenoza, trombi i simptomi ishemije krajnjeg organa. Klasifikacija TA u dječjoj dobi temelji se na klasifikacijskim kriterijima iz Ankare koje su 2008. definirali EULAR/PRINTO/PRES (4).

Krvni tlak na sva četiri ekstremiteta treba redovito mjeriti u svih bolesnika s TA. Laboratorijski nalazi u djece s TA uključuju povišene reaktante akutne faze u ranim stadijima bolesti. Međutim, ti su nalazi nespecifični i normalne vrijednosti reaktanta akutne faze ne isključuju dijagnozu. Osnovne laboratorijske pretrage trebaju uključivati: brzinu sedimentacije eritrocita, CRP, kompletnu krvnu sliku, testove koagulacije, razmaz periferne krvi, testove bubrežne i jetrene funkcije, kreatin kinazu, LDH i analizu urina s omjerom proteina i kreatinina ili albumina i kreatinina. Druge laboratorijske pretrage trebale bi uključivati testiranje na tuberkulozu (kvantiferonski test) i serologiju na sifilis. Imunološki testovi mogu uključivati antinuklearna protutijela (ANA), ANCA, antifosfolipidna protutijela, reumatoidni faktor (RF), imunoglobuline IgG/IgA/IgM/IgE, serumske razine C3 i C4 i protutijela na glomerularnu bazalnu membranu (anti-GBM). Ultrazvuk srca, EKG i oftalmološki pregled potrebno je učiniti u svih bolesnika čim se posumnja na dijagnozu (29).

Inicijativa SHARE nedavno je razvila preporuke utemeljene na dokazima za korištenje slikovnih metoda kod rijetkih pedijatrijskih vaskulitisa u kliničkoj praksi (29). Magnetsku rezonanciju s angiografijom (MRA) treba koristiti kao prvi slikovni test za postavljanje dijagnoze TA. Konvencionalna kateterska digitalna suptrakcijska arteriografija metoda je koja se koristi u vizualizaciji manjih žila (<5 mm, uključujući koronarne) i za postupke reovaskularizacije kao što je angioplastika. Doppler ultrazvuk koristan je za evaluaciju karotida i bubrežnih arterija. PET-CT je koristan za otkrivanje aktivnog vaskulitisa velikih krvnih žila ako je pozitivan, ali se ne može rutinski koristiti za kontinuirano praćenje aktivnosti bolesti.

Do najvećih promjena vezanih za TA došlo je vezano uz preporuke o liječenju. Naime, osim preporuka koje je donijela inicijativa SHARE 2019. godine, postoje i preporuke EULAR-a koje su inicijalno donesene 2008. godine pa revidirane 2020. godine, a 2021. godine izdane su preporuke Američkog društva za reumatologiju (ACR, engl. American College of Rheumatology) (29, 30, 31).

Inicijativa SHARE preporučuje indukcijsko liječenje ciklofosfamidom u teškim slučajevima ili metotreksatom u kombinaciji s visokim dozama glukokortikoida (pulsevi metilprednizolona tijekom 3 uzastopna dana nakon čega slijedi oralni prednizolon uz postupno smanjivanje doze tijekom 6 mjeseci). Također su preporučili liječenje blokatorima TNF-alfa, interleukina-6 (tocilizumab) i/ili rituksimabom za refrakternu bolest.

Revidirane EULAR-ove preporuke kao preferencijalni lijek u indukcijskoj fazi liječenja navode metotreksat, mikofenolat mofetil, leflunomid ili azatioprin u kombinaciji s visokim dozama glukokortikoida dok je ciklofosfamid rezerviran za one bolesnike u kojih su svi drugi oblici liječenja bili neuspješni ili se nisu tolerirali.

Američke preporuke preferiraju primjenu metotreksata u djece s TA uz visoke doze glukokortikoida, a u refrakternim slučajevima preferiraju davanje blokatora TNF-alfa ispred tocilizumaba.

Ekspertna grupa SHARE preporučila je terapiju održavanja remisije metotreksatom, azatiopriinom ili mikofenolat mofetilom (dodatno uz biološki lijek, ovisno o pojedinačnom slučaju). Trajanje terapije održavanja nije navedeno, ali može biti potrebno liječenje od 1 do 3 godine.

Revidirane EULAR-ove preporuke i ACR-ove preporuke savjetuju da se remisija održava istim lijekom kojim je započeta indukcija, ali se razlikuju u preporukama kako treba smanjivati doze glukokortikoida.

VASKULITISI POVEZANI S ANCA PROTUTIJELIMA

Vaskulitisi povezani s ANCA primarni su sistemski vaskulitisi koje karakterizira nekrotizirajući vaskulitis s malo ili bez imunodepozita u malim do srednje velikim arterijama (tj. kapilarama, venulama, arteriolama i malim arterijama) u više organa, a često su povezani s prisutnošću cirkulirajućih autoantitijela (ANCA) koja su obično usmjerena protiv mijeloperoksidaze (MPO) ili proteinaze 3 (PR3) (32). Ova skupina vaskulitisa uključuje granulomatozu s poliangiitisom (GPA; prethodno Wegenerova granulomatoza), mikroskopski poliangiitis (MPA), eozinofilnu granulomatozu s poliangiitisom (EGPA; prethodno Churg-Straussov sindrom) i vaskulitis jednog organa uključujući vaskulitis ograničen na bubrege. Za klasifikaciju GPA koristimo se kriterijima iz Ankare koje su 2008. definirali EULAR/PRINTO/PRES dok za klasifikaciju MPA i EGPA ne postoje kriteriji nego se koriste definicije druge međunarodne konsenzusne konferencije održane 2012. u Chapel Hillu (3, 4).

U laboratorijskoj obradi koriste se iste pretrage koje su navedene za TA (29). Pozitivna ANCA je česta, ali u dječjoj dobi ipak rjeđa nego u odraslih pacijenata. Dijagnozu ovih vaskulitisa snažno podupire pozitivan ANCA test, ali negativan rezultat ne isključuje dijagnozu jer neki pedijatrijski bolesnici ne razviju ANCA protutijela. PR-3 i MPO-ANCA rijetko su pozitivni u isto vrijeme i ovaj nalaz pobuđuje sumnju na vaskulitis izazvan lijekovima.

Za razliku od TA, u ove skupine vaskulitisa biopsije tkiva korisne su za postavljanje točne dijagnoze i poželjno ih je učiniti kad god je to moguće. Za točnu dijagnozu od velike su važnosti slikovne metode. Rendgen prsnog koša indiciran je za sve bolesnike, nakon čega slijedi CT prsnog koša u slučaju abnormalnog nalaza ili sumnje na zahvaćenost pluća. Kada se sumnja na GPA, CT ili MRI sinusa može biti od pomoći. U svih bolesnika s EGPA potrebno je učiniti EKG i ehokardiografiju.

I ovdje postoje novosti vezane uz terapijske preporuke. Slično kao i kod TA, postoje preporuke od tri različita ekspertna društva: SHARE, EULAR i ACR (29, 33, 34).

Prema preporukama SHARE početno liječenje uključuje primjenu intravenskih pulseva ciklofosfamida u kombinaciji s visokim dozama glukokortikoida. Samo u nekim specifičnim slučajevima ili podtipovima bolesti, ritkusimab ili mikofenolat mofetil savjetuju se kao lijekovi za primarnu indukciju.

Smjernice EULAR-a i ACR-a razlučuju je li riječ o teškom obliku bolesti (u kojem postoji životna ugroza ili ugroza organa) ili blažem obliku bolesti. Dok EULAR navodi da se u teškim oblicima bolesti za indukciju mogu koristiti ciklofosfamid ili rituksimab, ACR preporučuje rituksimab ispred ciklofosfamida. Može se zaključiti kako u novijim smjernicama ciklofosfamid više nije preferencijalna opcija liječenja. U blažim oblicima bolesti EULAR preporučuje primjenu rituksimaba uz glukokortikoide, a ACR daje prednost metotreksatu.

Dok SHARE inicijativa preporučuje primjenu plazmafereze u liječenju brzoprogresivnog glomerulonefritisa s polumjesecima, ACR ne preporučuje plazmaferezu.

Razlike postoje i glede preporuka za održavanje remisije. SHARE inicijativa preporučuje održavanje remisije kombinacijom niskih doza glukokortikoida uz mikofenolat mofetil ili azatioprin. EULAR i ACR preferiraju rituksimab i za održavanje remisije u bolesnika s teškim oblikom bolesti dok kod onih s lakšim oblikom bolesti ACR preporučuje metotreksat ili azatioprin.

NODOZNI POLIARTERITIS

Radi se o nekrotizirajućem vaskulitisu pretežno u arterijama srednje i male veličine (35). Nekrotizirajući vaskulitis definiran je upalnim lezijama krvnih žila i nekrozom stijenke žile. Klasifikacija cPAN-a temelji se na kriterijima iz Ankare 2008. koje su definirali EULAR/PRINTO/PRES (4).

PAN se razlikuje od GPA koji uključuje ne samo arterije, već i venule, glomerularne kapilare i plućne alveolarne kapilare. Za razliku od MPA, PAN ne uključuje pozitivna ANCA antitijela. Nadalje, PAN ne zahvaća glomerule.

cPAN se klasificira u tri podtipa: kožni, sistemski i onaj povezan s infekcijom virusom hepatitisa B.

Početna je laboratorijska obrada ista kao i u vaskulitisa povezanih s ANCA uz napomenu kako su ANCA i ANA negativna u bolesnika s PAN-om (29). Dodatno, budući da je posebno važno isključiti monogenske vaskulitise i druge monogenske autoinflamatorne bolesti s vaskulitisom, u obradi djece s PAN-om koriste se genske pretrage. Primjenjuju se metode sekvencioniranja sljedeće generacije, pri čemu se može analizirati samo jedan gen ili paneli većeg broja gena, sve do sekvencioniranja cijelog egzoma ili genoma. Napominjemo kako je od 2024. godine po prvi puta u Republici Hrvatskoj dostupan imunogenetski panel koji sadrži 372 gena povezana s 8 skupina bolesti iz spektra poremećaja imunskog sustava među kojima je i 8 gena povezanih s monogenim vaskulitisima i vaskulopatijama.

Konačna dijagnoza postavlja se prikazom aneurizmi, stenoza ili okluzija malih ili srednjih arterija, najbolje konvencionalnom selektivnom arteriografijom, ali ponekad je moguće i MR-angiografijom ili CT-angiografijom i/ili biopsijom zahvaćenih krvnih žila.

U liječenju su nam na raspolaganju smjernice EULAR-a koje nisu revidirane od 2008., preporuke SHARE iz 2019. te najnovije preporuke ACR-a iz 2021. (36, 29, 37).

I prema preporukama EULAR-a i inicijative SHARE početno liječenje uključuje primjenu intravenskih pulseva ciklofosfamida u kombinaciji s visokim dozama glukokortikoida. U slučaju rezistencije ili u bolesnika kod kojih postoji zabrinutost u pogledu toksičnosti ciklofosfamida, preporuke SHARE razmatraju primjenu biološke terapije: blokade TNF-alfa ili interleukina-6 (tocilizumab) ili rituksimaba.

Američke se preporuke razlikuju utoliko što, slično kao i kod vaskulitisa povezanih s ANCA, razlikuju teški oblik bolesti kod kojeg također u inicijalnom liječenju preporučuju kombinaciju ciklofosfamida i visokih doza glukokortikoida, ali kod blažih oblika bolesti preporučuju kombinaciju metotreksata ili azatioprina uz glukokortikoide.

U terapiji održavanja SHARE savjetuje primjenu azatioprina, metotreksata ili mikofenolat mofetila uz niske doze glukokortikoida, a EULAR uz niske

doze glukokortikoida primjenu azatioprina, metotreksata ili leflunomida. Američke su preporuke slične EULAR-ovima, odnosno preferiraju azatioprin ili metotreksat. Dakle, niti u EULAR-ovim niti u ACR-ovim preporukama ne savjetuje se primjena mikofenolat mofetila u liječenju PAN-a.

MONOGENSKI VASKULITISI

Otkrića dvaju vaskulitisa, onog vezanog uz nedostatak adenozin deaminaze 2 (DADA2) i vaskulopatije dojenčadi povezane sa stimulatorom interferonskih gena (SAVI), redefinirala su paradigmu sistemskog vaskulitisa (38, 39, 40). Ovi monogeni oblici sekundarnog vaskulitisa često se manifestiraju rano i nanose razorne posljedice djeci i odraslima. Dok su uzročni geni za DADA2 i SAVI definirani, ostaje mnogo toga za naučiti o složenoj patofiziologiji ovih bolesti.

DADA2 je monogenska autoinflamatorna bolest koju obilježavaju moždani udari i sistemski vaskulitis u male djece (39, 40). Bolest obično počinje prije desete godine života. Klinički spektar ove bolesti znatno se proširio, a varijabilni hematološki i imunološki poremećaji opisani su u otprilike polovice bolesnika. Hematološke manifestacije uključuju izoliranu aplaziju eritrocita s varijabilnom citopenijom, čak i bez vaskulitisa ili sustavne upale. Neki bolesnici imaju humoralnu imunodeficienciju i rekurentne infekcije. Ključne kliničke značajke uključuju *livedo racemoso*, neurološke manifestacije – sklonost lakunarnom moždanom udaru, vaskulitičnu perifernu neuropatiju, digitalnu ishemiju i kožne ulceracije, sustavnu upalu i druga oštećenja krajnjih organa. Kožne manifestacije, prisutne u više od 75 % oboljelih osoba, uključuju *livedo racemoso/reticularis*, promjene koje odgovaraju PAN-u, potkožne čvorove, kožne ulkuse ili osip sličan lupusu. Mogu biti prisutne intermitentne vrućice, hepatosplenomegalija, arterijska hipertenzija, povišeni CRP i ubrzana sedimentacija tijekom epizoda pogoršanja, povišene transaminaze dok su ANCA protutijela negativna. U postavljanju dijagnoze koriste se mjerenje aktivnosti adenozin deaminaze 2 i genska dijagnostika. Dijagnoza DADA2 postavlja se kod bolesnika sa sugestivnim kliničkim i laboratorijskim nalazima i bialelnim patogenim varijantama ADA2 s gubitkom funkcije identificiranim molekularnim testiranjem i/ili niskom (<5 % normale) ili nemjer-

ljivom katalitičkom aktivnošću ADA2 u plazmi ili serumu. Inhibitori TNF-alfa lijekovi su izbora za manifestacije autoinflamatorne bolesti/vaskulitisa. Primjena takvih lijekova smanjuje rizik od ishemijskog moždanog udara i upalnog oštećenja (što se vidi po nižim razinama CRP-a SE i manjim osipom na koži) i ublažava imunodeficienciju, hepatosplenomegaliju i neutropeniju. Transplantacija krvotvornih matičnih stanica može biti učinkovita kod pojedinaca kod kojih prevladava zatajenje koštane srži i/ili imunološka disregulacija, a koji ne reagiraju na liječenje inhibitorom TNF-alfa.

SAVI je vrlo rijetka autoinflamatorna bolest koju obilježavaju rano nastala sistemska upala (s početkom u dojenačkoj dobi), intersticijska bolest pluća i teška kožna vaskulopatija lokalizirana u akralnim regijama, uključujući prste, uške, nos (38). U bolesnika se pojavljuje kronični kašalj uz batičanje prstiju, vaskulitične promjene na bradi, nosu, uškama i prstima koje prelaze u kronične ulceracije/gangrene. Nenapredovanje, povremeni febriliteti, poliartritis i miozitis dodatne su kliničke značajke. Intersticijska bolest pluća s fibrozom uz hilarnu ili paratrahealnu limfadenopatiju glavni je uzrok morbiditeta i mortaliteta. Dolazi do progresivne hipoksemične respiratorne insuficijencije, često asimptomatske u ranom djetinjstvu. Liječenje je ove bolesti izazovno. Zabilježeno je da su sistemski glukokortikoidi djelomično učinkoviti u nekim slučajevima, međutim, većina bolesnika slabo reagira na glukokortikoide, imunosupresive i biološke lijekove. Osim toga, prognoza bolesti općenito je loša, osobito u bolesnika s teškim zahvaćanjem pluća s visokom smrtnošću u prva dva desetljeća života. U svjetlu ohrabrujućih rezultata dobivenih primjenom inhibitora Janus kinaze (JAK), pretpostavlja se da ovo liječenje najviše obećava, ali terapijski učinak JAK inhibitora na različite fenotipove bolesti zahtijeva daljnje istraživanje (41, 42).

Potpota:

Projekt Hrvatske zaklade za znanost, IP-2024-05-6848.

LITERATURA

1. Eleftheriou D, Brogan PA. Vasculitis in children. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2009;23(3):309–23. doi: 10.1016/j.berh.2008.12.003.
2. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, et al. Nomenclature of systemic vasculitides: the proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum*. 1994;37(2):187–92. doi: 10.1002/art.1780370206.
3. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, et al. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum*. 2013;65(1):1–11. doi: 10.1002/art.37715.
4. Ozen S, Pistorio A, Iusan SM, et al. EULAR/PRINTO/PRES criteria for Henoch-Schönlein purpura, childhood polyarteritis nodosa, childhood Wegener granulomatosis, and childhood Takayasu arteritis: Ankara 2008. Part II: Final classification criteria. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(5):798–806. doi: 10.1136/ard.2009.116657.
5. Gardner-Medwin JM, Dolezalova P, Cummins C, Southwood TR. Incidence of Henoch-Schönlein purpura, Kawasaki disease, and rare vasculitides in children of different ethnic origins. *Lancet*. 2002;360(9341):1197–202. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11279-7.
6. Sapina M, Frkovic M, Sestan M, et al. Geospatial clustering of childhood IgA vasculitis and IgA vasculitis-associated nephritis. *Ann Rheum Dis*. 2021;80(5):610–6. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-218877.
7. Jelusic M, Sestan M. IgA vasculitis or Henoch-Schönlein purpura: genetics and beyond. *Pediatr Nephrol*. 2021;36(7):2149–53. doi: 10.1007/s00467-020-04669-2.
8. Held M, Stingl Jankovic K, Sestan M, et al. HLA polymorphisms and clinical manifestations in IgA vasculitis. *Int J Mol Sci*. 2024;25(2):882. doi: 10.3390/ijms25020882.
9. Batnoci Varga M, Held M, Wagner J, et al. The association of HMGB1 and RAGE gene polymorphisms with IgA vasculitis. *Biochem Genet*. 2024;62(3):2268–78. doi: 10.1007/s10528-024-10419-2.
10. González LM, Janniger CK, Schwartz RA. Pediatric Henoch-Schönlein purpura. *Int J Dermatol*. 2009;48(11):1157–65. doi: 10.1111/j.1365-4632.2009.04138.x.
11. Sestan M, Srsen S, Kifer N, et al. Persistence and severity of cutaneous manifestations in IgA vasculitis is associated with development of IgA vasculitis nephritis in children. *Dermatology*. 2022;238(2):340–6. doi: 10.1159/000517448.
12. Sestan M, Kifer N, Sozeri B, et al. Clinical features, treatment, and outcome of pediatric patients with severe cutaneous manifestations in IgA vasculitis: Multicenter international study. *Semin Arthritis Rheum*. 2023;61:152–209. doi: 10.1016/j.semarthrit.2023.152209.
13. Jelusic M, Sestan M, Giani T, Cimaz R. New insights and challenges associated with IgA vasculitis and IgA vasculitis with nephritis – is it time to change the paradigm of the most common systemic vasculitis in childhood? *Front Pediatr*. 2022;10:853724. doi: 10.3389/fped.2022.853724.
14. Sestan M, Kifer N, Frkovic M, et al. Gastrointestinal involvement and its association with the risk for nephritis in

- IgA vasculitis. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2021;13: 1759720X211024828. doi: 10.1177/1759720X211024828.
15. Oni L, Sampath S. Childhood IgA vasculitis (Henoch-Schönlein purpura) – advances and knowledge gaps. *Front Pediatr.* 2019;7:257. doi: 10.3389/fped.2019.00257.
16. Ozen S, Marks SD, Brogan P, et al. European consensus-based recommendations for diagnosis and treatment of immunoglobulin A vasculitis – the SHARE initiative. *Rheumatology (Oxford).* 2019;58(9):1607–16. doi: 10.1093/rheumatology/kez041.
17. Kifer N, Bulimbasic S, Sestan M, et al. Semiquantitative classification (SQC) and Oxford classifications predict poor renal outcome better than the International Study of Kidney Disease in Children (ISKDC) and Haas in patients with IgAV nephritis: A multicenter study. *J Nephrol.* 2023;36(2):441–9. doi: 10.1007/s40620-023-01507-w.
18. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Glomerular Diseases Work Group. KDIGO 2021 Clinical Practice Guideline for the Management of Glomerular Diseases. *Kidney Int.* 2021;100(4S):S1–S276. doi: 10.1016/j.kint.2021.05.021.
19. Vivarelli M, Samuel S, Coppo R, et al. IPNA clinical practice recommendations for the diagnosis and management of children with IgA nephropathy and IgA vasculitis nephritis. *Pediatr Nephrol.* 2025;40(2):533–69. doi: 10.1007/s00467-024-06238-4.
20. McCrindle BW, Rowley AH, Newburger JW, et al. Diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: A scientific statement for health professionals from the American Heart Association. *Circulation.* 2017;135(17):e927–e999. doi: 10.1161/CIR.0000000000000484.
21. Jone PN, Tremoulet A, Choueiter N, et al. Update on diagnosis and management of Kawasaki disease: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2024;150(23):e481–e500. doi: 10.1161/CIR.0000000000001191.
22. Ayusawa M, Sonobe T, Uemura S, et al. Revision of diagnostic guidelines for Kawasaki disease (the 5th revised edition). *Pediatr Int.* 2005;47(2):232–4. doi: 10.1111/j.1442-200X.2005.02033.x.
23. Kanegaye JT, Wilder MS, Molkara D, et al. Recognition of a Kawasaki disease shock syndrome. *Pediatrics.* 2009;123(5):e783–9. doi: 10.1542/peds.2008-1871.
24. Muise A, Tallett SE, Silverman ED. Are children with Kawasaki disease and prolonged fever at risk for macrophage activation syndrome? *Pediatrics.* 2003;112(6 Pt 1):e495. doi: 10.1542/peds.112.6.e495.
25. Ravelli A, Minoia F, Davi S, et al. 2016 classification criteria for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: A European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology/Paediatric Rheumatology International Trials Organisation collaborative initiative. *Arthritis Rheumatol.* 2016;68(3):566–76. doi: 10.1002/art.39332.
26. de Graeff N, Groot N, Ozen S, et al. European consensus-based recommendations for the diagnosis and treatment of Kawasaki disease – the SHARE initiative. *Rheumatology (Oxford).* 2019;58(4):672–82. doi: 10.1093/rheumatology/key339.
27. Henderson LA, Cron RQ. Macrophage activation syndrome and secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis in childhood inflammatory disorders: Diagnosis and management. *Paediatr Drugs.* 2020;22(1):29–44. doi: 10.1007/s40272-019-00362-2.
28. Johnston SL, Lock RJ, Gompels MM. Takayasu arteritis: A review. *J Clin Pathol.* 2002;55(7):481–6. doi: 10.1136/jcp.55.7.481.
29. de Graeff N, Groot N, Brogan P, et al. European consensus-based recommendations for the diagnosis and treatment of rare paediatric vasculitides – the SHARE initiative. *Rheumatology (Oxford).* 2019;58(4):656–71. doi: 10.1093/rheumatology/key338.
30. Hellmich B, Agueda A, Monti S, et al. 2018 update of the EULAR recommendations for the management of large vessel vasculitis. *Ann Rheum Dis.* 2020;79(1):19–30. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215672.
31. Maz M, Chung SA, Abril A, et al. 2021 American College of Rheumatology/Vasculitis Foundation guideline for the management of giant cell arteritis and Takayasu arteritis. *Arthritis Rheumatol.* 2021;73(8):1349–65. doi: 10.1002/art.41772.
32. Jariwala MP, Laxer RM. Primary vasculitis in childhood: GPA and MPA in childhood. *Front Pediatr.* 2016;4:226. doi: 10.3389/fped.2016.00226.
33. Hellmich B, Sanchez-Alamo B, Schirmer JH, et al. EULAR recommendations for the management of ANCA-associated vasculitis: 2022 update. *Ann Rheum Dis.* 2024;83(1):30–47. doi: 10.1136/ard-2023-224301.
34. Chung SA, Langford CA, Maz M, et al. 2021 American College of Rheumatology/Vasculitis Foundation guideline for the management of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2021;73(8):1088–105. doi: 10.1002/acr.24634.
35. Kawakami T. A review of pediatric vasculitis with a focus on juvenile polyarteritis nodosa. *Am J Clin Dermatol.* 2012;13(6):389–98. doi: 10.2165/11633650-000000000-00000.
36. Mukhtyar C, Guillevin L, Cid MC, et al. EULAR recommendations for the management of primary small and medium vessel vasculitis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(3):310–7. doi: 10.1136/ard.2008.088092.
37. Chung SA, Gorelik M, Langford CA, et al. 2021 American College of Rheumatology/Vasculitis Foundation guideline for the management of polyarteritis nodosa. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2021;73(8):1061–70. doi: 10.1002/acr.24633.
38. Liu Y, Jesus AA, Marrero B, et al. Activated STING in a vascular and pulmonary syndrome. *N Engl J Med.* 2014;371(6):507–18. doi: 10.1056/NEJMoa1312625.

39. Navon Elkan P, Pierce SB, Segel R, et al. Mutant adenosine deaminase 2 in a polyarteritis nodosa vasculopathy. *N Engl J Med.* 2014;370(10):921–31. doi: 10.1056/NEJMoa1307362.
40. Zhou Q, Yang D, Ombrello AK, et al. Early-onset stroke and vasculopathy associated with mutations in ADA2. *N Engl J Med.* 2014;370(10):911–20. doi: 10.1056/NEJMoa1307361.
41. Fremont ML, Rodero MP, Jeremiah N, et al. Efficacy of the Janus kinase 1/2 inhibitor ruxolitinib in the treatment of vasculopathy associated with TMEM173-activating mutations in 3 children. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(6):1752–5. doi: 10.1016/j.jaci.2016.03.034.
42. Sanchez GAM, Reinhardt A, Ramsey S, et al. JAK1/2 inhibition with baricitinib in the treatment of autoinflammatory interferonopathies. *J Clin Invest.* 2018;128(7):3041–52. doi: 10.1172/JCI98814.

Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. sc. **Marija Jelušić**, dr. med.
Klinika za pedijatriju,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Klinički bolnički centar Zagreb
Kišpatićeva 12, 10 000 Zagreb
e-mail: marija.jelusic@mef.hr

S U M M A R Y

Novelties in the diagnosis and treatment of the most common systemic vasculitides in childhood

Marija Jelušić, Mario Šestan, Marijan Frković

Vasculitis is an inflammatory process that affects the blood vessel walls as the primary site of inflammation, which can lead to tissue damage due to vascular stenosis, occlusion, aneurysm, and/or rupture. The most common systemic vasculitis in children is IgA vasculitis (IgAV) and Kawasaki disease (KD). Gastrointestinal complications are the most common acute complications of IgAV, while kidney involvement (nephritis) is the most important chronic complication. The most important novelties in the field of IgAV relate to the follow-up of patients, whereby children at higher risk of developing nephritis are singled out. These are children with IgAV who have had severe gastrointestinal symptoms (severe abdominal pain, intussusception, hematochezia, and/or massive gastrointestinal bleeding), children with severe skin symptoms (ulcerations and necrosis, persistent purpura), male children and older children at the time of diagnosis of IgAV. Such children should be followed up for at least a year. According to the revised recommendations for the diagnosis of KD, it should be suspected in any child with unexplained fever lasting 4 or more days, with the presence of four or more criteria: bilateral conjunctival injection, changes in the oral cavity and lips, polymorphic rash, cervical lymphadenopathy, redness of the palms and soles, swelling of the hands and feet in the acute phase, and peeling of the skin around the nails in the later stages. According to the newer, revised recommendations, treatment of KD is not started equally in all patients, but those with a standard risk of developing coronary artery aneurysms should receive intravenous immunoglobulins and acetylsalicylic acid, and those with a high risk should receive additional anti-inflammatory therapy, i.e. systemic glucocorticoids or TNF- α blockers (infliximab or etanercept).

Key words: SYSTEMIC VASCULITIS; CHILD; IGA VASCULITIS; MUCOCUTANEOUS LYMPH NODE SYNDROME; TAKAYASU ARTERITIS; ANTI-NEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODY-ASSOCIATED VASCULITIS; POLYARTERITIS NODOSA

Pedeset godina od otkrića interleukina 1: biologija, patogeneza i terapija

Alenka Gagro*

Prošlo je 50 godina od otkrića interleukina 1, ključnog citokina za upalu u imunološkim reakcijama u ljudi, ali i važnog čimbenika u patogenezi brojnih bolesti. Među njima se u posljednjih 25 godina posebno ističu monogenske autoinflamatorne bolesti no i brojne druge obilježene citokinskom olujom. Razvoj lijekova kojima se ciljano blokira IL-1 doveo je do dugotrajne remisije i poboljšane prognoze za mnoge reumatološke bolesti koje su u prošlosti imale značajne komplikacije, a i u nekih i smrtne ishode.

Ključne riječi: INTERLEUKIN-1; ANTAGONIST INTERLEUKIN 1 RECEPTORA;
NASLJEDNE AUTOINFLAMATORNE BOLESTI

OTKRIĆE INTERLEUKINA-1

Upala je vrlo često sastavni dio različitih akutnih ili kroničnih bolesti u djece te često povezana s vrućicom različitog tijeka. Znanstvena potraga za uzrokom vrućice dovela je do otkrića molekula koje su se prije toga zvali pirogenima nakon njihovog pročišćavanja i kloniranja 1984. godine te su nazvani interleukin (IL)-1 α i IL-1 β (1). Istraživanja početkom 80-ih godina prošlog stoljeća pokazala su da uz ta dva interleukina postoji i njihov prirodni inhibitor, kasnije nazvan IL-1 receptor antagonist (IL-1RA) koji je potom kloniran 1990. godine (2).

U narednim godinama otkriveni su i drugi interleukini i njihovi prirodni inhibitori koji sudjeluju u upali te ih sada ubrajamo u obitelj IL-1. Sedam članova te obitelji ima agonističke učinke na svoje receptore (IL-1 α , IL-1 β , IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β i IL-36 γ), dok četiri (antagonist receptora IL-1 (IL-1RA), antagonist receptora IL-36 (IL-36RA), IL-37 i IL-38) imaju antagonistička svojstva (3).

Različiti okidači (tzv. molekularni obrasci povezani s oštećenjem stanica i mikroorganizmima) identi-

ficirani su kao okidači lučenja IL-1 (4). Naše razumijevanje upalnih odgovora potaknutih IL-1 ključno je za postavljanje indikacije za ciljanu terapiju blokiranja IL-1 u ljudskim bolestima (5).

BIOLOGIJA INTERLEUKINA 1 I NJIHOVOG ANTAGONISTA

IL-1 α

IL-1 α se konstitutivno nalazi u svim stanicama kao aktivni pro-oblik i jedinstven je po tome što se lokalizira u jezgri, citoplazmi i staničnoj membrani. Iako se IL-1 α može cijepati pomoću nekoliko proteaza, nije potrebno cijepanje za biološku aktivnost ili za izlučivanje. Glavni mehanizam otpuštanja IL-1 α je litička stanična smrt (piroptoza ili nekroptoza), a posljedica sterilna upala, primjerice tijekom ishemije. Za razliku od IL-1 β , obično mu koncentracije u krvi nisu povišene u raznim upalnim stanjima (4).

IL-1 β

Za razliku od IL-1 α , IL-1 β nije prisutan u stanicama zdravih osoba. Taj interleukin luče monociti, tkivni

* Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klinika za pedijatriju, Zavod za pedijatrijsku pulmologiju, alergologiju, kliničku imunologiju i reumatologiju, V. Klaića 16, 10000 Zagreb

makrofagi i dendritičke stanice nakon aktivacije. Najčešći podražaj za lučenje jesu mikroorganizmi, ali i drugi signali opasnosti te interleukini (npr. faktor tumorske nekroze (TNF, engl. *tumor necrosis factor*), IL-18). Za razliku od tih podražaja, u bolestima koje obilježava samoupala, i sami IL-1a i IL-1b mogu poticati nekontrolirano lučenje IL-1b. Nastajanje biološki aktivnog IL-1b iz njegovog prekursora (tzv. pro-IL-1b) omogućuje kaspaza 1 aktivirana inflamatom koja potom uklanja aminoterminalne aminokiseline s prekursora. Opisan je i proces nastajanja IL-1b putom neovisnim o upali, no u tom procesu sudjeluje kaspaza 8 (4, 5).

IL-1RA

IL-1RA djeluje kao antagonistički citokin budući da se veže na stanični površinski receptor IL-1 (IL-1R), isti receptor koji veže IL-1a i IL-1b, ali za razliku od tih citokina ne izaziva prijenos signala tim receptorom. Proizvodnju IL-1RA stimuliraju mnoge tvari uključujući dijelove mikroorganizama i citokine (IL-13, IL-6, IL-4, IFN γ , GM-CSF i TGF β).

IL-1RA izlučuju različite vrste stanica uključujući monocite, makrofage, neutrofile, Sertolijeve stanice, hepatocite, adipocite, sinovijalne fibroblaste, mastocite, stanice gušterače i intestinalne epitelne stanice (4, 5).

VAŽNOST IL-1: MUTACIJE U GENIMA I BOLESTI U LJUDI

Važnost IL-1 α , IL-1 β i IL-1RA dodatno je potkrijepljena otkrićem mutacija u pojedinačnim genima koji kodiraju proteine povezane s upalom kao uzrokom više bolesti u ljudi. Monogeni autoupalni poremećaji uzrokovani IL-1 dovode do trajne aktivacije inflamatora (npr. NLPR3 ili pirinskih inflamatora) i naknadne aktivacije kaspaze 1, što rezultira otpuštanjem IL-1 i autoinflamacijom. U drugim monogenim bolestima uključujući one uzrokovane mutacijama u TNFRSF1A, MVK, PSTPIP1 i CDC42, smatraju se autoupalnim poremećajima povezanim s IL-1 budući da dovode do aktivacije IL-1 putevima koji nisu izravna aktivacija inflamatora, kao što je nakupljanje intracelularnog okidača stresa, pojačanog vezanja na poznate unutarstanične senzore ili djelovanjem na imunološki sustav preko različitih signalnih puteva (tablica 1). Nedostatak antagonista interleukina-1-receptora (DIRA) je autosomno recesivni,

genetski autoupalni sindrom koji je posljedica mutacije u IL1RN, genu koji kodira IL-1RA (7, 8).

Poligenski autoupalni poremećaji i druge bolesti u čijoj patogenezi sudjeluje IL-1

Uz monogene autoinflamatorne bolesti, čini se da je i mnoštvo poligenih bolesti posredovano IL-1, pa se lijekovi usmjerni na blokiranje IL-1 koriste u njihovom liječenju (6). Te bolesti uključuju sistemski juvenilni idiopatski artritis (sJIA)/Stillovu bolest, sindrom aktivacije makrofaga (MAS, od eng. *macrophage activation syndrome*), Schnitzlerin sindrom, giht, rekurentni perikarditis, kronični rekurentni multifokalni osteomijelitis, hidradenitis supurativa, bolesti povezane s gangrenoznom piodermom i aknama, akutni hemoragijski leukoencefalitis, Kawasakijska bolest, Behçet-ova bolest, sindrom periodične vrućice, aftoznog stomatitisa, faringitisa i adenitisa (PFAPA) i multisistemskim upalnim sindromom u djece povezanim s COVID-19 (Tablica 2). Prošireni spektar bolesti u kojih se istražuje mogući povoljan učinak terapije inhibicijom IL-1 prikazuje Tablica 3. Temeljem istraživanja pokazano je da u tim bolestima može biti prisutna upalna komponenta u kojoj sudjeluje IL-1, no preostaje za vidjeti hoće li rezultati tih kliničkih studija dovesti do proširenja postojećih indikacija za terapiju lijekovima koji blokiraju IL-1.

Klinički i laboratorijski prikaz imunoreumatoloških bolesti u djece uzrokovanih ili povezanih s IL-1

Uz vrućicu, najčešći klinički prikaz autoupale posredovane IL-1 je rekurentna ili kronična upala. Bolesnici često imaju kronični umor ili malaksalost, promjene na koži (urtikarijski osip, akne), aftozni stomatitis, različite nalaze na mišićno-koštanom sustavu (mijalgija, artritis, sterilne litičke koštane lezije), upalu seroznih ovojnica (pleure i peritoneuma), središnjeg živčanog sustava i konjunktiva. Laboratorijska procjena bolesnika tijekom ili ponekad čak i između napadaja otkriva povišene biljege akutne faze, neutrofiliju u krvi i tkivu te anemiju kronične bolesti. U bolesnika sa sindromom aktivacije makrofaga (MAS)/hemofagocitnom limfohistiocitozom (HLH), hiperferitinemija, porast laktat dehidrogenaze, niska koncentracija ili pad fibrinogena, pancitopenija i povišeni trigliceridi upućuju na ovu po život opasnu komplikaciju.

Tablica 1. Monogenske autoinflamatorne bolesti uzrokovane ili povezane s IL-1

Bolest	Kratica	Gen	Klinička slika
Obiteljski autoinflamatorni sindrom uzrokovan hladnoćom	FCAS	<i>NLRP3</i>	Urtikarija potaknuta hladnoćom, zimica, konjunktivitis, mijalgija/artralgiya, vrućica
Sindrom Muckle Wells	MWS	<i>NLRP3</i>	Senzoneuralno oštećenje sluha, urtikarija, konjunktivitis, mijalgija/artralgiya, vrućica
Multisustavna inflamatorna bolest s početkom u novorođenačkoj dobi	NOMID	<i>NLRP3</i>	Upala centralnog živčanog sustava (kronični aseptički meningitis, gubitak vida, oštećenje sluha) artritis koljena, urtikarija, vrućica
Obiteljska mediteranska vrućica	FMF	<i>MEFV</i>	Bolovi u trbuhu i prsima zbog upale ovojnice, artralgiye, miozitis, erizipelu sličan osip nad gležnjevima, vrućica
Samoupala povezana s pirinom i neutrofilna dermatosa	PAAND	<i>MEFV</i>	Sterilni kožni abscesi, mijalgija, miozitis, osip, vrućica
Manjak mevalonat kinaze/hiper IgD sindrom	MKD/HIDS	<i>MVK</i>	Pokrenut cijepljenjem, bol u trbuhu, povraćanje, osip, mijalgija/artralgiya, afte, vrućica
Mevalonska acidurija	MA	<i>MVK</i>	Razvojno odstupanje, dismorfija, progresivnacerebelarna ataksija, vrućica, hepatosplenomegalija
Periodične vrućice vezane uz receptor čimbenika tumorske nekroze	TRAPS	<i>TNFRSF1A</i>	Bolni centrifugalni osip, periorbitalni edemi, prolongirana vrućica, bolovi u trbuhu, glavobolja, konjunktivitis, mijalgija/artralgiya
Manjak antagonista receptora za IL-1	DIRA	<i>IL1RN</i>	Pustularni osip, sterilni osteomijelitis, periostitis, hepatosplenomegalija, vrućica
Pirogeni sterilni artritis, gangrenozna pioderma, akne	PAPA	<i>PSTPIP1</i>	Gangrenozna pioderma, artritis, akne
Hipercinkemija/hiperkalprotektinemija	Hz/Hc	<i>PSTPIP1</i>	Osip, nenapredovanje, hepatosplenomegalija, neutropenija
Citopenija, poremećaj hematopoeze, samoupalni osip, hemofagocitna histocitoza s početkom u novorođenačkoj dobi	NOCARH	<i>CDC42</i>	Pancitopenija, neurorazvojni poremećaji, dismorfija lica, učestale infekcije, osip, sindrom aktivacije makrofaga, hemofagocitna limfocitocitoza, vrućica
Sindrom Majeeed		<i>LPIN2</i>	Osteomijelitis, diseritropoetička anemija, osip, vrućica

Zakašnjela dijagnoza i kronična upala koja je u tijeku mogu u nekih bolesnika uzrokovati oštećenje tkiva, kao što je sekundarna amiloidoza (tzv. AA tip) (9, 10).

Pristup od liječenja do cilja u bolesti uzrokovanih ili povezanih s IL-1

Krajnji cilj terapije autoinflamatornih bolesti uzrokovanih ili povezanih s IL-1 je postići kliničku kontrolu simptoma, normalizirati laboratorijske biomarkere sistemske upale i minimizirati ili spriječiti razvoj oštećenja organa u bolesnika (11-16). U praksi često vidimo da je potreban i individualni pristup terapiji jer postoje neke skupine bolesnika u kojih tegobe dobro kontroliramo davanjem terapije tijekom akutnog napada bolesti, ali i oni koji zahtijevaju više doze ili češće doziranje kao što su bolesnici s težim autoupalnim simptomima (kao što je multisistemska upalna bolest novorođenačke dobi i nedostatak mevalonat kinaze), mlađi bolesnici i oni s atipičnim prezentacijama ili mutacijama niske penetracije. Također nam nedostaje

dovoljno dokaza dobivenih kontroliranim ispitivanjima o učinkovitosti anti-IL-1 lijekova u prevenciji amiloidoze ili njihovoj sigurnosti u trudnoći (5, 11).

IL-1 inhibitori

Otkrićem ključne uloge IL-1 i njegovog antagonista, IL-1RA, vrlo brzo je došlo do razvoja lijekova za brojne bolesti u djece i odraslih.

Razvijeno je nekoliko inhibitora IL-1, no u većini europskih zemalja odobrenje za stavljanje u promet imaju samo dva, anakinra (analog IL-1RA) i kanakinumab (selektivno monoklonsko protutijelo protiv IL-1 β). Odabir inhibitora IL-1 ovisi o specifičnim farmakološkim mehanizmima, farmakokinetici, indikacijama bolesti i troškovima (5). Nažalost, još uvijek nemamo odgovarajuća izravna prospektivna ispitivanja različitih inhibitora IL-1, no dostupne je meta-analiza kliničkih studija za sJIA (17).

Duboko poznavanje patogeneze autoupalnih bolesti moglo bi nam pomoći u odabiru najprikladni-

Tablica 2. Poligenski autoupalni poremećaji povezani s IL-1

Bolest	Geni povezani s bolešti	Klinička slika Presentation	Terapijski ciljevi Therapeutic targets
Sistemijski juvenilni idiopatski artritis/Stillova boles u odraslih	Lokus za klasu II HLA, HDAC9, LACC1/FAMIN	Vrućica, artritis, artralgijs, osip Fever, arthritis, arthralgia, rash	IL-1, IL-6, TNF, IL-18, IFN- γ
Schnitzlerin sindrom	NLRP3	Kronična urtikarija, vrućica, artralgijs, limfadenopatija, bolovi u kostima, hiperostoza kostiju / Chronic urticaria, fever, arthralgia, lymphadenopathy, bone pain, skeletal hyperostosis	IL-1, TNF
Giht	ADRB3, MTHFR, SLC22A11, SLC22A12, SLC2A9, SLC2A12, ABCG2, SLC17A1, SLC17A3, ALC16A9, GCKR, LRRC16A, PDZK1, R3HDMZ, RREB1, ALDH16A1, MAF, URAT1	Recidivirajući upalni artritis, kronična artropatija, tofi, nefrolitijaza / Recurrent flares of inflammatory arthritis, chronic arthropathy, tophaceous deposits, uric acid nephrolithiasis	IL-1
Rekurentni pericarditis	MEFV, HLA B14, DRB1*01, DQB1*0202	Bolovi u prsištu, perikardijalno trenje, promjene u EKG, perikardijalni izljev / Pleuritic chest pain, pericardial rub, ECG changes, pericardial effusion	IL-1
Kronični rekurentni multifokalni osteomijelitis	IL1RN	Vrućica, artritis, multifokalna upala kostiju fever, arthritis, multifocal bone inflammation	IL-1, TNF
Supurativni hidradenitis	PSENEN, NCSTN, PSEN1	Bolni čvorovi i apscesi u intertriginoznim područjima (npr. pazusi, prepone) / Painful nodules and abscesses in intertriginous areas (armpits, groins)	TNF, IL-1
Gangrenozna pioderma, akne, supurativni hidradenitis	MEFV, NOD2, NLRP3, IL1RN, PSTPIP1, PSMB8, NCSTN	Supurativni hidradenitis, gangrenozna pioderma, akne / Hidradenitis suppurativa, pyoderma gangrenosum, acne	IL-1, IL-18
Piogeni artritis, akne, gangrenozna pioderma i supurativni hidradenitis	PSTPIP1	Supurativni hidradenitis, piogeni sterilni artritis, gangrenozna pioderma, akne / Hidradenitis suppurativa, pyogenic sterile arthritis, pyoderma gangrenosum, acne	IL-1, TNF, IL-17A, IL-18
Gangrenozna pioderma, akne i supurativni hidradenitis	Nije poznato	Supurativni hidradenitis, gangrenozna pioderma, akne, ankilozantni spondilitis / Hidradenitis suppurativa, pyoderma gangrenosum, acne, ankylosing spondylitis	IL-1, IL-18
Akutni hemoragijski leukoencefalitis	CFI	Vrućica, neurološki poremećaj, konvulzije, pleocitoza u cerebrospinalnom likvoru / Fever, neurological dysfunction, seizures, pleocytosis of cerebrospinal fluid	IL-1
Periodička vrućica, aftozni stomatitis, faringitis, adenitis	IL12A, STAT4, IL10, CCR1-CCR3, CARD8, ALPK1	Rekurentne vrućice u pravilnim razmacima, aftozni stomatitis, eksudativni faringitis, cervikalni adenitis / Recurrent fever with regular periodicity, aphthous stomatitis, exudative pharyngitis, cervical adenitis	IL-1
Kawasakijeva bolest	FCGR2A, BLK, CD40, ITPKC, CASP3	Vrućica, konjunktivitis, upala sluznica, osip, limfadenopatija vrata, dilatacija koronarnih krvnih žila / Fever, conjunctivitis, mucositis, rash, cervical lymphadenopathy, coronary artery dilatation	TNF, IL-1
Behçetova bolest	IL12A, IL10, STAT4, CCR1-CCR3, IL23R-IL12RB2, FUT2, HLAB51/B5	Recidivirajući ulkusi genitalne sluznice, uveitis ili vaskulitis mrežnice, noduli ili papulopustule kože, pozitivna patergijs / Recurrent genital aphthae, uveitis or retinal vasculitis, nodular or papulopustular skin lesions, positive pathergy	IL-1, TNF
Teški COVID-19	ACE2, TMPRSS2, geni povezani s prijenosom signala interferonima tipa I, TLR3	Jaka zaduha, dispneja, respiratorna insuficijencija / Severe dyspnoea, hypoxemia, respiratory failure	IL-1, IL-6

Tablica 3. Prošireni popis bolesti u kojima se ispituje učinak terapije blokiranjem IL-1

Bolesti prema vodećoj simptomatologiji	Bolesti
Muskuloskeletne/reumatološke	Osteoartritis, ozljede prednjeg križnog ligamenta, reumatoidni artritis, polimiozitis, dermatomiozitis, subakromijalni burzitis, arteritis gigantskih stanica, sklerodermija, sarkoidoza (srčana i plućna)
Dermatološke	Pustularna psorijaza, palmoplantarna pustuloza, urtikarijalni vaskulitis, teški atopijski dermatitis, <i>pityriasis rubra pilaris</i>
Neurološke	Multipla skleroza, sindrom kroničnog umora, autoimuni neurosenzorni gubitak sluha, autoimuna bolest unutarnjeg uha, intrakranijalno krvarenje, Duchenneova mišićna distrofija
Upalne	Upala u ekstremno nedonoščadi
Bubrežne/metaboličke	Završni stadij bubrežne bolesti, kronična bubrežna bolest, dijabetes melitus tip 2, mukopolisaharidoza tip III
Kardiovaskularne	Akutni miokarditis, zatajenje srca, ateroskleroza
Oftalmološke	Blepharokeratoconjunctivitis, uveitis
Hematološke/onkološke	Kronična limfocitna leukemija, komplikacije terapije CAR T-stanicama, metastatski rak dojke, mijelofibroza, anemija srpastih stanica
Prirođeni poremećaji imunosti	Kronična granulomatozna bolest, sindrom Wiscott Aldrich
Pulmološke	Plućna arterijska hipertenzija, cistična fibroza, sindrom akutnog respiratornog distresa

jeg inhibitora IL-1, neselektivnog (anakinra) ili selektivnog (kanakinumab). Na primjer, u DIRA-i, inhibicija upale trebala bi ciljati i na IL-1 α i IL-1 β . U bolesnika s upalom središnjeg živčanog sustava lijek izbora je anakinra jer prodire kroz krvno-moždanu barijeru učinkovitije od drugih inhibitora IL-1. U djece mlađe od 2 godine anakinra je za sada jedina opcija liječenja. Jedna od prednosti kanakinumaba, posebno kod djece, jest mjesečna (ili čak dvomjesečna) primjena koja poboljšava suradljivost s terapijom kao i bolju kontrolu bolesti. Ukupna stopa odgovora na inhibitore IL-1 ovisi o stanju koje se liječi. Na primjer, u bolesnika sa sJIA iznosi do 90 %, osobito ako se primjenjuje rano tijekom bolesti. Međutim, za određene bolesti

Tablica 4. Usporedba odobrenih indikacija Europske agencije za lijekove za supkutano liječenje IL-inhibitorima, anakinrom i kanakinumaba.

	Anakinra	Canakinumab
Dob (najniža)	8 mjeseci	2 godine
Tjelesna masa (najniža)	10 kg	Nema ograničenja
Indikacije		
Reumatoidni artritis	da	ne
Kriopiriniopatije	da	da
Obiteljska mediteranska vrućica	da	da
Manjak mevalonat kinaze/hiper IgD sindrom	ne	da
Periodična vrućice vezane uz receptor čimbenika tumorske nekroze	ne	da
Sistemska juvenilni idiopatski artritis	da	da
Stillova bolest u odraslih	da	da
Giht	ne	da
COVID-19	da	ne

izazvane IL-1 (kao što je periodični sindrom povezan s receptorom čimbenika tumorske nekroze (TRAPS) i manjkom mevalonat kinaze/hiper IgD sindroma) ovisno o vrsti studije, odgovor se kreće između 50 do 75 % (18).

Tablica 4 prikazuje usporedbu između dva inhibitora IL-1 za indikacije koje je odobrila Europske agencije za lijekove.

Anakinra

Anakinra je antagonist humanog interleukina-1 receptora proizveden u stanicama *Escherichia coli* s pomoću tehnologije rekombinantne DNK, a razlikuje se od endogenog IL-1RA dodatkom metionina na amino-terminalnom dijelu molekule. Vrijeme za postizanje maksimalne koncentracije u plazmi nakon supkutane primjene u klinički relevantnim dozama je 3-7 sati. Za razliku od kanakinumaba, anakinra prodire kroz krvno-moždanu barijeru i postiže protuupalne koncentracije u mozgu. Bolesnici liječeni anakinrom često razviju protutijela protiv lijekova, međutim, dokazi upućuju na to da prisutnost tih antitijela rijetko ima utjecaja na farmakokinetiku, sigurnost ili učinkovitost lijeka. U bolesnika s vrlo teškom prezentacijom bolesti, moguće je primijeniti anakinru intravenski ili kontinuirano u dozi do 10 mg/kg/dnevno no takva primjena za sada nije navedena u indikaciji lijeka (19).

Kanakinumab

Kanakinumab je ljudsko IgG1/ κ monoklonsko anti-IL-1 β protutijelo koje nema unakrsnu reaktivnost s drugim članovima obitelji interleukina-1, uključujući interleukin-1 β . Ovaj lijek izravno se natječe s IL-1RI za vezanje IL-1 β . Kanakinumab ima procijenjeni poluživot od 22 dana i to omogućuje mjesečnu injekciju u većine bolesnika. Antitijela na kanakinumab mogu se otkriti u približno 3 % bolesnika, međutim, rijetko su neutralizirajuća (20).

Kao što je prije spomenuto, direktna usporedba anakinre i kanakinumaba u bolestima izazvanim IL-1 za sada nije objavljena. Međutim, kliničko iskustvo pokazuje da bolesnici koji ne reagiraju na jedan lijek mogu imati povoljan učinak drugog IL-1 inhibitora (4, 20).

NUSPOJAVE NA INHIBITORE IL-1

Najčešće nuspojave inhibitora IL-1 uključuju reakcije na mjestu injiciranja, proljev, infekciju, artralgijske i glavobolje. Laboratorijska obrada prije početka terapije uključuje procjenu rizika za aktivnu ili latentnu tuberkulozu i praćenje broja neutrofila i moguće povišenje jetrenih testova jer su oni najčešći tijekom liječenja. Reakcije preosjetljivosti kao što je osip od lijeka s eozinofilijom i sistemskim simptomima (DRESS, od engl. *drug rash with eosinophilia and systemic symptoms*) i anafilaksija rijetke su i često povezane s HLA-DRB1*15 (21). U neke djece sa SJIA koja su bila liječena inhibitorima IL-1, osobito u onih s težom bolešću koja se manifestira sindromom aktivacije makrofaga, prijavljeno je neobično, ponekad po život opasno stanje nazvano sistemska bolest pluća povezana s JIA (SJIA-LD) (22). Upozoravajući klinički znakovi te po život opasne komplikacije su novonastala tahipneja, kašalj i akutno nastalo zadebljanje prstiju s crvenilom.

PREPORUKE ZA LIJEČENJE BOLESTI UZROKOVANIH IL-1

Međunarodna stručna društva redovito evaluiraju i objavljuju preporuke za liječenje bolesnika s IL-1 posredovanim i pridruženim stanjima. Kao što je već spomenuto, te preporuke također trebaju uključivati specifične točke koje treba razmotriti u vezi s strategijom T2T, najprikladnijim lijekom na

početku bolesti, prevencijom relapsa, kratkoročnim i dugoročnim komplikacijama, kriterijima za smanjenje i/ili prekid liječenja, poboljšanje kvalitete života i prijelaz u skrb za odrasle. Validirane rezultate aktivnosti bolesti također treba razviti i implementirati u našu svakodnevnu praksu za liječenje pacijenata s bolestima uzrokovanim IL-1 (13, 14).

IL-1 INHIBITORI ZA GENERACIJE Y, Z, ALFA I BETA

Iako je početni fokus liječenja bolesti uzrokovanih IL-1 bio na ciljanju pojedinačnih proteina u putu IL-1, ovaj pristup nije bio uspješan u svih bolesnika. Očekuje se da će se važnost drugih citokina, kao što su IL-18 i IL-36, otvoriti mogućnost i kombiniranoj terapiji (na primjer IL-1 β i IL-18) ili će uključivati primjenu novih inhibitora. Popis novih kandidata lijekova i klinička ispitivanja koja su u tijeku detaljnije su opisana u radu 5.

Bolje znanje o genetici, korelaciji genotip-fenotip i epigenetici trebalo bi otvoriti nove puteve za liječenje monogenetskih bolesti u kojima je IL-1 ključan u patogenezi, a moguće i genske terapije. Za druge poligenske bolesti uzrokovane IL-1, razvoj biomarkera trebao bi nam pomoći da odaberemo one koji će imati najviše koristi od pravovremene i odgovarajuće inhibicije puta IL-1.

LITERATURA

1. Auron PE, Webb AC, Rosenwasser LJ, et al. Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984;81:7907-11. doi: 10.1073/pnas.81.24.7907
2. Eisenberg SP, Evans RJ, Arend WP, et al. Primary structure and functional expression from complementary DNA of a human interleukin-1 receptor antagonist. *Nature*. 1990;343:341-6. doi: 10.1038/343341a0
3. Dinarello CA. The IL-1 family of cytokines and receptors in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2019;15:612-32. doi: 10.1038/s41584-019-0277-8
4. Mantovani A, Dinarello CA, Molgora M, Garlanda C. Interleukin-1 and related cytokines in the regulation of inflammation and immunity. *Immunity* 2019;50:778-95. doi: 10.1016/j.immuni.2019.03.012
5. Broderick L, Hoffman HM. IL-1 and autoinflammatory disease: biology, pathogenesis and therapeutic targeting. *Nat Rev Rheumatol*. 2022;18:448-63. doi: 10.1038/s41584-022-00797-1
6. Ubhe A. IL-1 receptor antagonist: etiological and drug delivery systems overview. *Inflamm Res*. 2024;73:2231-47. doi: 10.1007/s00011-024-01960-y

7. Lin B, Goldbach-Mansky R. Pathogenic insights from genetic causes of autoinflammatory inflammasomopathies and interferonopathies. *J Allergy Clin Immunol*. 2022 Mar;149(3):819-832. doi: 10.1016/j.jaci.2021.10.027
8. Zhang J, Lee PY, Aksentijevich I, Zhou Q. How to Build a Fire: The Genetics of Autoinflammatory Diseases. *Annu Rev Genet*. 2023 Nov 27;57:245-274. doi: 10.1146/annu-rev-genet-030123-084224
9. Gagro A. Autoinflamatorne bolesti: od klasifikacije do prognoze. *Paediatr Croat*. 2029;63(Supl 1):236-48.
10. Šestan M, Jelušić M. Kada posumnjati na autoinflamatornu bolest? *Reumatizam*. 2020;67:36-55. doi: 10.33004/reumatizam-67-1-4
11. Romano M, Arici ZS, Piskin D, et al. The 2021 EULAR/American College of Rheumatology points to consider for diagnosis, management and monitoring of the interleukin-1 mediated autoinflammatory diseases: cryopyrin-associated periodic syndromes, tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome, mevalonate kinase deficiency, and deficiency of the interleukin-1 receptor antagonist. *Ann Rheum Dis* 2022;81:907-921. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-221801
12. Ehlers L, Rolfes E, Lieber M, et al. Treat-to-target strategies for the management of familial Mediterranean Fever in children. *Pediatr Rheumatol* 2023;21:108. doi: 10.1186/s12969-023-00875-y
13. Fautrel B, Mitrovic S, De Matteis A, et al. EULAR/PReS recommendations for the diagnosis and management of Still's disease, comprising systemic juvenile idiopathic arthritis and adult-onset Still's disease. *Ann Rheum Dis*. 2024;83:1614-27. doi: 10.1136/ard-2024-225851
14. Cetin Gedik K, Arici ZS, Kul Cinar O, Garcia-Bournissen F, Romano M, Demirkaya E. Practical Approach to Diagnosis and Management of IL-1-Mediated Autoinflammatory Diseases (CAPS, TRAPS, MKD, and DIRA). *Paediatr Drugs*. 2024;26:113-26. doi: 10.1007/s40272-023-00615-5
15. Cron RQ. IL-1 Family Blockade in Cytokine Storm Syndromes. *Adv Exp Med Biol*. 2024;1448:553-63. doi: 10.1007/978-3-031-59815-9_36
16. Gagro A. Usefulness of interleukin-1 blockade in autoinflammatory diseases. *Reumatologia*. 2024;62(2):71-73. doi: 10.5114/reum/188546
17. Kilic B, Ozturk A, Karup S, Hacıoglu E, Ugurlu S. Efficacy and safety of biologic drugs in Still's disease: a systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials. *Rheumatology (Oxford)*. 2025 Jan 1;64(1): 22-31. doi: 10.1093/rheumatology/keae295
18. Malcova H, Strizova Z, Milota T, et al. IL-1 Inhibitors in the Treatment of Monogenic Periodic Fever Syndromes: From the Past to the Future Perspectives. *Front Immunol* 2021;11:619257. Published 2021 Feb 1. doi:10.3389/fimmu.2020.619257
19. Monteagudo LA, Boothby A, Gertner E. Continuous Intravenous Anakinra Infusion to Calm the Cytokine Storm in Macrophage Activation Syndrome. *ACR Open Rheumatol*. 2020;2:276-82. doi: 10.1002/acr2.11135
20. Sun H, Van LM, Floch D, et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Canakinumab in Patients With Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis. *J Clin Pharmacol*. 2016;56: 1516-27. doi:10.1002/jcph.754
21. Saper VE, Ombrello MJ, Tremoulet AH, et al. Severe delayed hypersensitivity reactions to IL-1 and IL-6 inhibitors link to common HLA-DRB1*15 alleles. *Ann Rheum Dis*. 2022;81:406-15. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-220578
22. Saper VE, Chen G, Deutsch GH, et al. Emergent high fatality lung disease in systemic juvenile arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2019;78:1722-31. doi:10.1136/annrheumdis-2019-216040

Adresa za dopisivanje:

Doc. dr. sc. **Alenka Gagro**, dr. med.

Klinika za dječje bolesti Zagreb

Klinika za pedijatriju, Zavod za pedijatrijsku pulmologiju, alergologiju, kliničku imunologiju i reumatologiju

V. Klaića 16, 10000 Zagreb

e-mail: alenka.gagro@gmail.com

SUMMARY

Fifty years since the discovery of interleukin 1: biology, pathogenesis and therapy

Alenka Gagro

It has been 50 years since the discovery of interleukin 1, a key proinflammatory cytokine for immune reactions in humans, but also an important factor in the pathogenesis of numerous diseases. Among them, in the last 25 years, monogenic autoinflammatory diseases have stood out, as well as other diseases associated with a cytokine storm. The development of drugs that target IL-1 has led to long-term remission and improved prognosis for many rheumatological diseases that in the past had significant complications and, in some cases, even fatal outcomes.

Key words: INTERLEUKIN-1; INTERLEUKIN 1 RECEPTOR ANTAGONIST PROTEIN; HEREDITARY AUTOINFLAMMATORY DISEASES

Pristup u obradi djeteta s vrućicom nepoznatog uzroka

Mario Šestan, Marijan Frković, Nastasia Kifer, Marija Jelušić*

Vrućica nepoznatog uzroka relativno je često stanje u pedijatriji koje i dalje predstavlja dijagnostički izazov. O vrućici nepoznata podrijetla ili o nejasnom febrilnom stanju u djece govorimo kad je vrućica prisutna u trajanju duljem od 8 dana, a da pritom anamneza, klinički pregled i osnovni laboratorijski nalazi nisu otkrili uzrok vrućice. Infekcije su i dalje vodeći uzrok vrućice nepoznatog uzroka u dječjoj dobi, ali u slučaju prolongirane vrućice osim infekcija treba pomišljati na reumatske, autoimunosne, autoinflamatorne, granulomatozne, maligne bolesti odnosno tumore te ostale rijetke bolesti. U pristupu ovom problemu posebnu pozornost treba posvetiti anamnezi i temeljitom pregledu te ga ponavljati u više navrata. Ponekad nam laboratorijski testovi prve linije zajedno sa slikovnim obradom prve razine omogućuju da isključimo najčešće i/ili ozbiljne uzroke vrućice nepoznatog uzroka te nas upućuju trebamo li nastaviti s daljnjom obradom. Naknadna obrada trebala bi biti usmjerena sukladno dijagnostičkoj sumnji te daljnju laboratorijsku i slikovnu obradu treba mudro planirati.

Ključne riječi: VRUĆICA NEPOZNATOG UZROKA; DIJETE; INFEKCIJE; REUMATSKE BOLESTI; AUTOINFLAMATORNE BOLESTI; NEOPLAZME

UVOD

Vrućica je jedan od najčešćih simptoma u pedijatriji, a procjenjuje se razlogom za približno trećinu svih posjeta pedijatru u primarnoj zdravstvenoj zaštiti. U djece se za povišenu tjelesnu temperaturu uzimaju sljedeće vrijednosti: rektalno iznad 37,9 °C, aksilarno iznad 37 °C, oralno iznad 37,5 °C, te uhu iznad 37,9 °C za djecu mlađu od 11 godina, odnosno iznad 37,5 °C za djecu stariju od 11 godina. U okviru pedijatrijske prakse vrućica se može podijeliti u nekoliko kategorija (1).

Kada vrućica traje do sedam dana, govorimo o kratkotrajnom febrilnom stanju. U ovoj skupini nalazimo djecu koja uz povišenu temperaturu mogu pokazivati i druge simptome ili znakove koji

sugeriraju lokaciju infekcije. To nazivamo vrućicom s lokaliziranim simptomima. Suprotno tome, ako dijete ima vrućicu bez izraženih dodatnih simptoma, a traje do sedam dana, riječ je o kratkotrajnom nejasnom febrilnom stanju koje se još naziva i vrućica bez znakova lokalizacije (engl. *fever without localising signs* – FWLS), vrućica bez poznatog izvorišta (engl. *fever without a source* – FWS) ili vrućica bez poznatog žarišta (engl. *fever without a focus* – FWF). U većini ovih slučajeva uzrok su tzv. “samoizlječive infekcije”, za koje specifična terapija nije potrebna, osim ako se dokaže bakterijska infekcija, kada je potrebno uvesti antimikrobnu terapiju.

Poseban oprez potreban je u novorođenčadi i dojenčadi mlađe od tri mjeseca. U toj dobnoj skupini

*Klinika za pedijatriju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Klinički bolnički centar Zagreb, Zavod za imunologiju, reumatologiju, respiracijske i alergološke bolesti, Referentni centar za pedijatrijsku i adolescentnu reumatologiju Republike Hrvatske

značajno je veći rizik od ozbiljnih bakterijskih infekcija, poput sepse, meningitisa, bakterijemije, urinarnih infekcija ili osteomijelitisa. Zbog složenosti kliničke procjene, u ove djece vrućica često iziskuje hospitalizaciju radi opsežnije dijagnostike, praćenja i terapije.

U djece s vrućicom koja traje osam ili više dana, a za koju anamneza, klinički pregled i osnovni laboratorijski nalazi nisu otkrili uzrok, riječ je o vrućici nepoznatog uzroka ili nejasnom febrilnom stanju (2). Ova kategorizacija prilagođena je pedijatrijskoj praksi jer se izvorna definicija ovog stanja, koja potječe iz 1961. godine, prvenstveno odnosila na odrasle. Prema toj definiciji, koja je preuzeta iz prospektivnog istraživanja koje su proveli *Petersdorf i Beeson* na Sveučilištu Yale, vrućica nepoznata uzroka podrazumijevala je tjelesnu temperaturu iznad 38,3 °C koja traje više od tri tjedna, bez utvrđenog uzroka nakon tjedan dana intenzivnih bolničkih pretraga (3). Tijekom godina, predložene su razne prilagodbe ove definicije, uključujući razliku između ambulantnog praćenja (gdje vrućica mora trajati najmanje tri tjedna) i bolničkog liječenja (gdje se to razdoblje smanjuje na sedam dana), ili uvođenje jedinstvenog perioda od dva tjedna, bez obzira na način praćenja bolesnika.

ETIOLOGIJA

Poznato je da ključnu ulogu u podizanju termostatske točke u prednjem dijelu hipotalamusa imaju određeni upalni medijatori, poput interleukina-1 α (IL-1 α), interleukina-6 (IL-6) i tumor nekrotizirajućeg faktora alfa (TNF- α). Ovi tzv. endogeni pirogeni nastaju kao rezultat upalnog procesa koji može biti potaknut infekcijama, sistemskim neinfekcijskim upalnim bolestima ili malignim tumorima. Djelovanje IL-1 i IL-6 temelji se na aktivaciji metaboličkih puteva, uključujući ciklooksigenazu-2 (Cox-2) i STAT-3, što dovodi do sinteze prostaglandina E2 (PGE2). Upravo PGE2 podiže postavke hipotalamičkog termostata, što rezultira pojavom vrućice.

Uzroci vrućice nepoznatog uzroka mogu se svrstati u četiri kategorije: infekcije, upalna stanja neinfektivne etiologije, neoplazme i ostali uzroci (4). Dodatno, varijabilni postotak bolesnika ostaje bez dijagnoze čak i nakon temeljitih pretraga. Tijekom godina kategorije uzroka vrućice nepo-

znatog uzroka ostale su iste, ali s drugačijim postotcima. Prve američke studije na pedijatrijskim bolesnicima s vrućicom nepoznatog uzroka pokazale su da se u oko 80 % slučajeva uspio identificirati uzrok: infekcije u 40 %, upalna stanja neinfektivne etiologije u 15 %, a onkološki uzroci u 10 % (5). U posljednjem desetljeću, zahvaljujući razvoju preciznih dijagnostičkih metoda, smanjio se udio djece bez dijagnoze, tako da se uzrok identificira u oko 85 % slučajeva. U najvećem sustavnom pregledu do danas provedenom u pedijatrijskoj populaciji (6), uzrok je bila infekcija u 51 % (od čega u 56-71 % bakterijska, a 3-15 % virusna, pri čemu je virusni uzročnik češći u razvijenim zemljama). Druga najčešća situacija (23 %) bila je neutvrđena etiologija (češće u razvijenim zemljama nego u zemljama u razvoju, 31 % naspram 18 %), a slijede je razne bolesti (11 %), autoimunosne ili autoinflamatorne bolesti (9 %) i, na kraju, maligne bolesti (6 %).

Uzroci se razlikuju u zemljama u razvoju od onih u razvijenim zemljama. Međutim, čak i u novijim istraživanjima iz razvijenih zemalja, infekcije su i dalje najzastupljenije, u rasponu od 37,2 % do 50,9 %, a slijede ih upalne (od 4,9 % do 27,5 %) i neoplastične bolesti u rasponu od 4,5 % do 17 %. Postoji nekoliko razlika u infektivnim uzrocima između zemalja u razvoju, gdje je bruceloza glavni uzrok, a slijede je tifus, riketioza i tuberkuloza, i razvijenih zemalja, gdje su druge bakterijske infekcije, kao što su osteomijelitis, bartoneloza i virusne infekcije, posebno Epstein-Barrin virus (EBV), česti (6).

Osim toga, uzroci vrućice nepoznatog uzroka različito su raspoređeni u različitim dobnim skupinama. Infekcije su daleko najčešće u prvoj godini života, a kasnije im se udio smanjuje, ali uvijek ostaju prvi uzrok. Prema nedavnom kineskom istraživanju udio infekcija opada s dobi od 73 % na 44 %, a bakterijske infekcije glavni su uzrok u djece mlađe od 1 godine, a virusne u one između 1 i 6 godina. Onkološke ili autoimunosne bolesti sve su češće u kasnijoj dobi (7).

Što je duljina trajanja vrućice veća, to je manja vjerojatnost infektivne etiologije bolesti, a napose ako je trajanje vrućice dulje od 4 tjedna.

Prema istraživanju *Jacobsa i sur.* iz 1998. godine od infektivnih bolesti kao uzroka vrućice nepoznata podrijetla na prvom mjestu bila je infekcija

EBV-om, nakon čega je slijedio osteomijelitis, na trećem mjestu bila je infekcija bartonelama, a na četvrtom infekcije mokraćnog sustava (8). Infektivne bolesti koje se manifestiraju prolongiranom vrućicom mogu se podijeliti na sustavne i lokalizirane. U sustavnih infekcija najčešće se radi o infekcijama uzrokovanim virusima iz skupine herpesvirusa: EBV-om i CMV-om. Od ostalih sustavnih virusnih infekcija mogu se izdvojiti infekcija HIV-om te virusnim hepatitisima. Među bakterijskim uzročnicima takvu kliničku sliku mogu dati tuberkuloza, salmoneloze, rikecije, bruceloza, tularemija i infekcija spirohetama (primjerice, boreliozu i leptospirozu). Treba, međutim, napomenuti i kako se neprepoznate ili neadekvatno liječene lokalizirane infekcije gornjih (primjerice, otitis) i donjih dišnih putova, mokraćne infekcije ili osteomijelitis odnosno skriveni apscesi (npr. u trbuhu) također mogu manifestirati kao vrućica nepoznata podrijetla.

Unutar upalnih reumatskih bolesti koje se mogu manifestirati vrućicom svakako je najzastupljeniji klinički entitet juvenilni idiopatski artritis (JIA), osobito sistemski oblik bolesti (sJIA). Od ostalih bolesti iz te skupine treba izdvojiti sistemski eritemski lupus koji započinje u dječjoj dobi (cSLE, engl. *childhood-onset systemic lupus erythematosus*). Treći entitet u skupini reumatskih odnosno autoimunskih bolesti na kojeg treba skrenuti pozornost jesu različite vrste vaskulitisa, a navlastito nodozni poliarteritis (PAN) i Kawasakijska bolest (9).

Posebnu skupinu vrućica čine sindromi periodičnih ili rekurentnih vrućica koji se ubrajaju u skupinu autoinflamatornih bolesti (10). Riječ je o skupini poremećaja koje obilježava prekomjerno pojačana upala posredovana stanicama i molekulama prirodnog imunološkog sustava, pri čemu postoji značajna predispozicija domaćina. Za zadovoljavanje kriterija potrebne su tri ili više epizode vrućice u razmaku većem od 7 dana u periodu od najmanje 6 mjeseci (11). Vrućica je često viša od 39 °C, a intervali između febriliteta mogu biti pravilni ili nepravilni. Između epizoda vrućice dijete je obično dobro i normalno raste. Tijekom epizoda vrućice prisutni su leukocitoza i povišeni reaktanti akutne faze upale uz normalizaciju laboratorijskih nalaza i prestanak simptoma nakon završetka epizode febriliteta. Početak bolesti najčešće je

unutar prvih 10 godina života. Obiteljska anamneza često je pozitivna, a za neke bolesti bitno je i etničko podrijetlo bolesnika. Prema duljini trajanja febrilnih epizoda mogu se podijeliti na one s kratkim epizodama (u trajanju od 24 do 48 sati) kao što je obiteljska mediteranska vrućica, na one sa srednje dugim epizodama vrućice (u trajanju od 4 do 7 dana), kao što je nedostatak mevalonat kinaze, te one s prolongiranim febrilnim epizodama kao što je periodična vrućica vezana uz TNF-receptor. U sindrome periodičnih vrućica tradicionalno se ubraja i sindrom PFAPA, najčešći sindrom periodičnih vrućica. Epizode obično započinju prije pete godine života, traju u prosjeku od tri do pet dana i pojavljuju se otprilike svakih 28 dana, a mogu biti praćene aftoznim stomatitisom, tonzilofaringitisom i limfadenitisom vrata.

Od malignih bolesti koje se mogu prezentirati nejasnim febrilnim stanjem treba izdvojiti limfome i akutne leukemije (2). Hodgkinov limfom očituje se obično sporijim tijekom od drugih malignih bolesti u djece, a obilježavaju ga povećanje limfnim čvorova na vratu i u medijastinumu, umor, gubitak na tjelesnoj masi i subfebrilitet ili vrućica iznad 38 °C koja je rijetko praćena tresavicama i obično se spontano snizuje nakon nekoliko sati. Akutne leukemije najčešće su maligne bolesti u djece a manifestiraju se febrilitetom obično uslijed infekcije. Od ostalih zloćudnih bolesti u djece koje se mogu očitovati kao febrilno stanje nepoznata uzroka treba spomenuti neuroblastom, primitivne neuroektodermalne tumore, Ewingov sarkom te tumore središnjeg živčanog sustava.

KLINIČKI PRISTUP DJETETU S VRUĆICOM NEPOZNATOG UZROKA

Procjena vrućice nepoznatog uzroka trebala bi biti sustavna i vođena poviješću bolesti i kliničkim pregledom (Tablice 1 i 2). Detaljna anamneza i objektivno ispitivanje i tumačenje prvih laboratorijskih nalaza temeljni su fokus.

CILJANA ANAMNEZA

Prvi korak u pravilnoj anamnezi trebao bi obuhvatiti definiciju vrućice u smislu trajanja, visine i trenda. Važno je dokumentirati da je vrućica stvarno prisutna. Roditeljska percepcija vrućice često se razlikuje od medicinske definicije. Korisno je odrediti što roditelj definira kao vrućicu i

Tablica 1. Osobitosti anamneze u djece s vrućicom nepoznatog uzroka (izmijenjeno i prilagođeno prema referenci 13)

Obiteljska anamneza	Bolest u više članova obitelji	Obiteljska disautonomija Sindromi periodičkih vrućica
Epidemiološka i socijalna anamneza	Podrijetlo	Obiteljska mediteranska vrućica
	Pohađanje kolektiva	Virusne infekcije, bakterijske infekcije
	Prehrambene navike	Nepasterizirano mlijeko: tuberkuloza, bruceloza, listerioza, <i>E. coli</i> , <i>Campylobacter</i> Kozje mlijeko: bruceloza, salmoneloza, listerioza Bunarska voda: salmoneloza, <i>Giardia</i> , <i>Campylobacter</i> Termički nedovoljno obrađeno meso: toksoplazmoza Pika: toksokaroza
	Cijepljenje	Neprovedeno: invazivne infekcije
	Spolna aktivnost	Spolno-prenosive bolesti
	Piercing i tetoviranje	HIV, hepatitis B ili C, infektivni endokarditis
	Putovanja, kupanje u rijekama i jezerima	Malaria, hepatitis A ili E, denga, leptospiroza, tuberkuloza, visceralna lišmenioza, shistosomijaza, lajmska bolest, rikecijoza, tularemija, Chikungunya, Vibrionaceae
	Ujed insekta/krpelja/životinje	Zoonoze
Prijašnje bolesti	Komorbiditeti	Autoimunosne bolesti
	Ugrađene medicinske naprave	Bakterijske infekcije
	Lijekovi	Vrućica inducirana lijekom
	Učestale infekcije	Mokraćne infekcije, tonzilofaringitis, infekcije kože
	Kirurški zahvati	Abdominalni ili zdjelčni apsces
Sadašnja bolest	Anoreksija	Leukemija, limfom
	Gubitak na tjelesnoj masi	Leukemija, limfom, upalna bolest crijeva, tuberkuloza, HIV
	Svrbež, noćno znojenje	Limfom
	Izrazita prostracija	Leukemija, limfom, sistemski oblik JIA, infektivni endokarditis, EBV

razlikuje li se to od medicinske definicije od 38,0 °C (2). Roditelji često prijavljuju taktilnu ili subjektivnu temperaturu bez stvarnog mjerenja temperature. Roditelje treba pitati je li temperatura mjerena termometrom i što je čini nižom (primjerice, kod Kawasakijske bolesti paracetamol je obično neučinkovit u snižavanju vrućice).

Detaljan opis vrućice kao intermitentne (npr. tuberkuloza, sJIA), rekurentne (sindromi periodičkih vrućica, infekcije spirohetama), remitentne (endokarditis) ili kontinuirane (piogeni apsces) ponekad može suziti diferencijalnu dijagnozu (1, 2).

Treba razlikovati vrućicu nepoznatog uzroka od tzv. pseudovrućice nepoznatog uzroka koja se definira kao uzastopne epizode benignih, samograničenih infekcija s vrućicom koje roditelji percipiraju kao jednu produljenu epizodu vrućice (12). Ovo treba isključiti prije poduzimanja skupih i nepotrebnih pretraga. Obično pseudovrućica nepoznatog uzroka počinje s dobro definiranom infekcijom (najčešće virusnom) koja se povlači, ali je

prate druge febrilne virusne bolesti koje mogu biti manje dobro definirane. Dijagnoza pseudovrućice nepoznatog uzroka obično zahtijeva pomnivo uzetu anamnezu, usredotočenu na prepoznavanje afebrilnih razdoblja između febrilnih epizoda, ali razlikovanje od prave vrućice nepoznatog uzroka može biti izazovno.

Povijest bolesti mora uključivati pitanja o etničkoj i geografskoj pripadnosti. Treba pitati o putovanjima, ne samo u nedavnoj prošlosti nego i prošlih godina, što može uputiti na infekcije karakteristične za određeno zemljopisno područje. Osim toga, izloženost domaćim i divljim životinjama te ubodima insekata predstavlja rizik od zoonoza, koje su posljednjih godina u porastu i u razvijenim zemljama.

Potrebno je istražiti postojanje kontakta s bolesnim osobama ili situacija povećanog rizika (kao što su putovanja u inozemstvo, posjeti zatvorima ili beskućništvu), prehrambene navike (poput konzumacije svježeg sira, kozjeg mlijeka i nepa-

Tablica 2. Osobitosti fizikalnog statusa u djece s vrućicom nepoznatog uzroka (izmijenjeno i prilagođeno prema referenci 2)

Sustavni znakovi	Pothranjenost/gubitak na tjelesnoj masi	Leukemija, limfom, tuberkuloza, kronične bolesti
	Bradikardija	Tifus, malarija, leptospiroza, centralna vrućica, vrućica inducirana lijekom
Trbuh	Hepatomegalija	Leukemija, limfom, granulomatozni hepatitis, HLH, tifus, virusni hepatitis, salmoneloza, bruceloza, bartoneloza, malarija, Coxiella, histoplazmoza, endokarditis, sistemski oblik JIA
	Splenomegalija	Leukemija, limfom, tuberkuloza, bruceloza, EBV, CMV, psitakoza, tifus, HLH, Kikuchi-Fuijmotova bolest, endokarditis, sistemski oblik JIA
	Palpabilna tvorba	Apsces, tumor
Srce	Šum	Endokarditis, atrijski miksom
	Aritmije	Reumatska vrućica, lajmska bolest
	Perikardijalno trenje	Perikarditis ili perikardijalni izljev (SLE)
Limfni čvorovi	Limfadenopatija	Leukemija, limfom, bartoneloza, tuberkuloza, lymphogranuloma venereum, CMV, EBV, adenovirus, HIV, toksoplazmoza, bruceloza, tularemija, mikobakterije, sistemski oblik JIA, Kikuchi-Fuijmotova bolest, manjak mevalonat kinaze, kriopirinopatije
Muskuloskeletni sustav	Bol u kostima	Osteomijelitis, tumori, infantilna kortikalna hiperostoza
	Artralgijska/artritis	Sistemski oblik JIA, obiteljska mediteranska vrućica, SLE, lajmska bolest, bruceloza, lymphogranuloma venereum, manjak mevalonat kinaze, sindrom periodične vrućice vezan uz receptor za tumor nekrotizirajući faktor alfa
	Mijalgije	Dermatomiozitis, piomiozitis, virusni miozitis, bruceloza, trihineloz, infekcija arbovirusom, nodozni poliarteritis, subdijafragmalni apsces
	Bol u kralježnici	Discitis, spondilodiscitis, bruceloza, tifus, endokarditis
Koža	Nodozni eritem	Infekcije (piogeni streptokok, tuberkuloza), JIA, SLE, upalna bolest crijeva, sarkoidoza, tumor
	Erythema migrans	Lajmska bolest
	Malarni osip	SLE, infekcija parvovirusom B19
	Osip boje lososa	Sistemski oblik JIA
	Palpabilna purpura	Nodozni poliarteritis, vaskulitis, endokarditis, bakterijemija, riketioza, virusne infekcije
	Seboroični osip	Histiocitoza
	Bulozne promjene	Stafilokokna infekcija
Usna šupljina i ždrijelo	Hiperemija	CMV, EBV, toksoplazmoza, tularemija, leptospiroza
	Afte	Behcetova bolest, sindrom PFAPA, manjak mevalonat kinaze, SLE
	Hipertrofija gingiva	Leukemija, histiocitoza
	Epistaksa	Leukemija, psitakoza, reumatska vrućica
	Zubobolja ili asimetrija ždrijela	Dentalni apsces, sinusitis, parafaringealni apsces
Lice	Bol, oticanje	Sinusitis, mastoiditis
Vrat	Meningizam	Kronični meningitis, mastoiditis, sinusitis, vertebralni osteomijelitis
	Palpabilna tvorba	Limfadenopatije, limfomi, Kawasakijska bolest, Lemierrov sindrom, supurativni tireoiditis
Oko	Konjunktivalna hiperemija	Kawasakijska bolest (štedi limbus rožnice), EBV, leptospiroza, tuberkuloza, SLE, bartoneloza, Chlamydia, histoplazmoza, manjak mevalonat kinaze, sindrom periodične vrućice vezan uz receptor za tumor nekrotizirajući faktor alfa
	Suho oko	Obiteljska disautonomija, SLE, nodozni poliarteritis, Sjögrenov sindrom
	Uveitis	JIA, sarkoidoza, SLE, Behcetova bolest, tuberkuloza, toksoplazmoza
	Promjene na fundusu	Milijarna tuberkuloza, toksoplazmoza, vaskulitis
	Ishemijska retinopatija	Nodozni poliarteritis
	Periorbitalni edem	Sindrom periodične vrućice vezan uz receptor za tumor nekrotizirajući faktor alfa
	Opsoklonus/mioklonus	Neuroblastom

steriziranih mliječnih proizvoda, bunarske vode ili termički nedovoljno obrađenog mesa), kao i prisutnost pika poremećaja za moguću infekciju toksokarom. U adolescenata treba evaluirati spolne navike, piercing ili tetoviranje te izloženost narkoticima. Na kraju, potrebno je provjeriti cijepjenja, uključujući i datum posljednjeg.

Potrebno je utvrditi ima li dijete komorbiditete, ponavljajuće infekcije (što može ukazati na imunodeficienciju), ugrađene medicinske naprave (centralni venski kateteri i/ili perkutana endoskopska gastrostoma) i je li imalo nedavne kirurške intervencije.

Naposlijetku treba ispitati postojanje sustavnih simptoma kao što su anoreksija, gubitak na tjelesnoj masi, svrbež, artralgijske, bolovi u trbuhu, promjene u stolici (poput proljeva ili melene) i njihovu povezanost s vrućicom (13).

Fizikalni pregled

Potrebno je obaviti temeljit fizikalni pregled uključujući i mjerenje vitalnih znakova i tjelesnu masu. Prisutnost određenih znakova može biti vrlo sugestivna za određene bolesti. Fizikalni pregled potrebno je ponavljati više puta, a promatranje u kontroliranom stacionarnom okruženju može biti korisno jer do 25 % značajnih fizikalnih nalaza može biti odsutno u trenutku prvog pregleda (14). S druge strane, potpuno normalni nalazi fizikalnog pregleda u vrijeme početne evaluacije nejasnog febrilnog stanja vrlo su indikativni za benigni uzrok.

Dijagnostički postupnik

Iako se djeca s vrućicom nepoznata uzroka nerijetko podvrgavaju širokoj dijagnostičkoj obradi, istraživanja su pokazala da je najvažniji korak u postavljanju ispravne dijagnoze detaljna anamneza i minuciozni pregled bolesnika. Prema nekim istraživanjima propusti u anamnezi i pregledu doveli su do pogreške u konačnoj dijagnozi u 10 do 15 % bolesnika!

Nadalje, iako se pri susretu s djetetom s nejasnim febrilnim stanjem često pomišlja na rijetke i neuobičajene bolesti, pokazalo se da se mnogo češće radi o uobičajenim bolestima koje se manifestiraju na atipičan način te su zbog toga u djece mnogo rjeđe nego u odraslih bolesnika potrebne složene i

skupe dijagnostičke pretrage. U cilju racionalne obrade izbor pretraga treba biti stupnjevit.

Odluka o ambulantnoj ili hospitalnoj obradi djeteta s nejasnim febrilnim stanjem treba se temeljiti na općem stanju, prisutnosti ili odsutnosti patoloških znakova pri fizikalnom pregledu i anamnestičkim podacima o komorbiditetima i čimbenicima rizika. Djeca s anamnestičkim podacima koji ne ukazuju na tzv. znakove opasnosti i s neupadljivim fizikalnim statusom (vitalni parametri unutar normalnog raspona) mogu se podvrgnuti ambulantnoj obradi koja uključuje laboratorijske testove prve linije sa slikovnim obradom prve razine. U djece s odstupanjem u anamnezi i fizikalnom statusu, obradu treba provesti u bolnici (14).

Pretrage prve razine

Prvu liniju obrade febriliteta nepoznata uzroka u djeteta čine sljedeće laboratorijske pretrage: kompletna krvna slika s razmazom periferne krvi, brzina sedimentacije eritrocita, C-reaktivni protein (CRP), hepatogram s LDH, elektroliti, elektroforeza serumskih proteina, hemokulture, pretraga urina i urinokultura (2, 14). Ponekad je uz navedene pretrage potrebno odrediti prokalcitonin (PCT), urate, kreatin kinazu i koncentracije feritina i imunoglobulina A, M i G te učiniti testiranje stolice na okultno krvarenje, potom citološku, bakteriološku i parazitološku analizu stolice, bris ždrijela, tuberkulinski kožni test ili kvantiferonski test. Ovisno o anamnestičkim podacima i nalazu fizikalnog pregleda uzet će se uzorak sinovijalne tekućine ili učiniti lumbalna punkcija. Neki autori smatraju da u prvu liniju laboratorijskih pretraga treba uvrstiti i serološke pretrage na CMV, EBV, bartonele i HIV (4). Slikovne pretrage prve razine uključuju rendgen toraksa, čak i u odsutnosti respiratornih simptoma, ultrazvuk trbuha, ultrazvuk srca i EKG. Djeca s mišićno-koštanim manifestacijama trebaju prvo napraviti rendgen kostiju, a zatim muskuloskeletni ultrazvuk.

Najčešća odstupanja u nalazu kompletne krvne slike jesu sljedeća (15). Anemija se susreće u reumatskim bolestima (JIA, cSLE i Kawasakijska bolest), infekcijama (kao što su malarija, tuberkuloza ili endokarditis), upalnim bolestima crijeva i malignim bolestima. Citopenija u više od jedne stanične linije i/ili pojava nezrelih oblika može se naći kod lišmanioze, leukemije, hemofagocitne limfohistiocitoze (HLH) i cSLE. Atipični limfociti u

razmazu periferne krvi mogu biti povezani s nekim virusnim infekcijama (npr. EBV i CMV), Kikuchi-Fujimotovom bolešću ali i s limfoproliferativnim poremećajima. Limfocitoza može se naći kod bolesti mačjeg ogreba, EBV infekcije i toksoplazmoze. Eozinofilija može upućivati na parazitske ili gljivične infekcije, alergije, neoplazme, imunodeficijencije i vrućicu povezanu s lijekovima. Trombocitoza može biti povezana s JIA, kao i s Kawasakijskom bolesti. Trombocitopenija se može naći kod virusnih infekcija, leptospiroze, tularemije i malarije, kao i kod autoimunskih bolesti, kao što je cSLE.

Upalni biljezi (broj leukocita, brzina sedimentacije, CRP i PCT) među najkorisnijim su biokemijskim parametrima u evaluaciji djece s vrućicom nepoznata uzroka. Značajno povećanje ovih biljega može ukazivati na upalni ili infektivni proces, iako im nedostaje specifičnost. U obradi nejasnog febrilnog stanja, osobito u bolničkom okruženju, blago povišene vrijednosti CRP-a ne bi se trebale koristiti za potvrdu ili isključivanje određene bolesti. Trendovi kretanja vrijednosti CRP-a vredniji su dijagnostički alat i mogu se koristiti za procjenu odgovora na liječenje i usmjeravanje modaliteta liječenja. Što se tiče brzine sedimentacije, valja napomenuti da na njenu vrijednost može utjecati nekoliko drugih varijabli: može biti lažno ubrzana tijekom anemije, hipergamaglobulinemije i hiperfibrinogenemije ili lažno usporena u bolestima u kojima se troši fibrinogen, kao što su intravaskularna koagulopatija i HLH (16). Nasuprot tome, CRP i, posebno PCT, osjetljiviji su od sedimentacije u otkrivanju upale u ranijim fazama bolesti. Međutim, klinički značaj PCT-a u dijagnostičkoj obradi febriliteta nepoznatog uzroka još uvijek je nejasan: točnost PCT-a superiornija je od CRP-a za teške bakterijske infekcije, ali ima tendenciju gubitka valjanosti u uznapredovalim fazama vrućice. Neki su autori predložili serumski feritin kao potencijalni biomarker u razlikovanju infektivnih i neinfektivnih uzroka, osobito kad su njegove vrijednosti visoke (17). Razine serumskog feritina najmanje pet puta veće od normalnih vrijednosti pokazale su se korisnim testom probira za dijagnozu neinfektivnih upalnih uzroka vrućice nepoznatog uzroka (npr. sJIA).

Pretrage druge razine

Ako anamneza i/ili fizikalni pregled daju određene tragove ili upućuju na tzv. znakove opasnosti, in-

dicirano je učiniti pretrage druge razine koje treba odabrati na temelju dijagnostičke sumnje (2, 14). Hospitalizacija nije uvijek obvezna za ovu razinu pretraga. Indikacije za primitak u bolnicu trebale bi uključivati narušeno opće stanje ili znakove kliničke nestabilnosti, brzu progresiju simptoma, kliničku sumnju na Münchhausenov sindrom preko posrednika, potrebu za praćenjem i/ili potrebu za složenijim pretragama/postupcima.

Tijekom druge faze, ako je ova mogućnost dostupna, preporučljivo je konzultirati pedijatrijske infektologe, reumatologe i/ili hemato-onkologe, ovisno o sumnji.

Mikrobiološka obrada, odabrana na temelju kliničke sumnje, uključuju specifične virusne i bakterijske serologije i pretraživanja genoma potencijalnog uzročnika PCR metodama. To može uključivati, uz već ranije spomenutu serologiju na CMV, EBV, bartonele i HIV, koji neki rade već u prvoj razini pretraga, i serologiju na virusne hepatitis, toksoplazmu, boreliozu, sifilis, tularemiju, toksokarozu i brucelozu. Također, kvantiferonski test neki autori uključuju u postupke prve razine. Obradu na malariju treba učiniti u djeteta s febrilitetom koje dolazi iz endemskih područja.

Kod sumnje na imunosno posredovane bolesti potrebno je učiniti imunološke pretrage (ANA, ENA profil, anti-dsDNA, ANCA, RF, određivanje komplementa - C3, C4, CH50, imunofenotipizacija limfocita periferne krvi). Ako se sumnja na reumatsku vrućicu, treba isključiti prethodnu streptokoknu infekciju (povećanje antistreptolizinskog titra u najmanje dvije evaluacije). Ako se sumnja na upalnu bolest crijeva, potrebno je odrediti ANCA i fekalni kalprotektin.

U slučaju sumnje na neuroblastom (npr. sistemska hipertenzija, bol u kralježnici ili prsnoj koži i op-soklonus-mioklonus sindrom), potrebno je odrediti vanililmandeličnu kiselinu u mokraći, a ako postoji sumnja na feokromocitom, metanefrine u mokraći.

Ako se ranije provedenim postupcima nije došlo do dijagnoze ili na to upućuju prethodni nalazi, pristupa se invazivnim metodama: biopsija limfnih čvorova u slučaju limfadenopatije; biopsija jetre ako je poremećen ultrazvuk ili su abnormalni testovi jetrene funkcije; punkcija ili biopsija koštane srži ako se uoče promjene u razmazu periferne

krvi. Pretragu koštane srži potrebno je učiniti ranije u slučaju bolesnika koji su lošeg općeg stanja ili progresivnog kliničkog pogoršanja te u febrilnih bolesnika s limfadenopatijom, hepato i/ili splenomegalijom ili drugim ozbiljnim manifestacijama (gubitak na tjelesnoj masi, znojenje) kako bi se isključili limfoproliferativni procesi, HLH ili postavila dijagnoza visceralne lišmanioze.

Slikovne pretrage druge razine, koje se također vode prema kliničkoj sumnji, uključuju kompjutoriziranu tomografiju (CT), magnetsku rezonanciju (MR), scintigrafiju, endoskopiju i biopsije tkiva. CT glave još uvijek se smatra zlatnim standardom kod sumnje na infekciju sinusa ili mastoida jer je okultni sinusitis relativno čest uzrok vrućice nepoznatog uzroka u djece (1). Slično, u slučaju jake kliničke sumnje na intraabdominalni apsces, uz negativan nalaz ultrazvuka, CT s kontrastom može biti osjetljiviji u postavljanju dijagnoze. Kod sumnje na mišićno-koštano zbivanje pri čemu prethodno provedenim pretragama (rengen, ultrazvuk) nije postavljena dijagnoza, potrebno je učiniti MR aficirane regije.

Više je istraživanja ukazalo na potencijalnu ulogu MR cijelog tijela u djece s febrilitetom nejasnog uzroka (18). U općenitom, MR cijelog tijela može biti dobar probirni test u evaluaciji djeteta s vrućicom nejasnog uzroka kada su prethodne konvencionalne radiološke metode dale negativan rezultat. Međutim, kako nije specifičan, pozitivan nalaz zahtijeva daljnje postupke (biopsija, punkcija koštane srži, ciljani MR).

Uporaba scintigrafije predlaže se među pretragama u bolesnika pedijatrijske dobi s vrućicom nepoznatog uzroka, osobito ako se sumnja na zloćudnu bolest, nakon početne obrade s neuvjerljivim ili nedovoljno definiranim rezultatima. U tom kontekstu fluoro-18-fluorodeoksiglukoza pozitronska emisijska tomografija (18F-FDG PET) i CT, koji kombinira anatomske s funkcionalnom studijom, pokazao se kao nuklearnomedicinski postupak prvog izbora (19). Međutim, treba spomenuti da, osim neoptimalne dijagnostičke točnosti (mogući lažno pozitivni i negativni nalazi), 18F-FDG PET/CT izlaže pacijenta ionizirajućem zračenju, stoga se njegova uporaba mora dobro razmotriti. Do sada je primjena 18-FDG PET/CT standardizirana samo za entitete sa značajnom aktivacijom imunskog sustava, kao što je HLH.

Za postavljanje točne dijagnoze monogenetskih autoinflammatoryh bolesti vrlo važnu ulogu imaju genske analize. Primjenjuju se metode sekvencioniranja sljedeće generacije, pri čemu se može analizirati samo jedan gen ako je klinički fenotip jasan, ili paneli većeg broja gena, sve do sekvencioniranja cijelog egzoma ili genoma (20). Najvećim iskorskom u dijagnostici bolesti imunskog sustava u našoj zemlji svakako smatramo uvođenje imunogenetskog panela koji je od 2023. godine po prvi puta dostupan u Republici Hrvatskoj. Na temelju pregleda literature, istraživanja i usporedbom kliničke prakse iz različitih centara izvrsnosti, u suradnji s Centrom za translacijska i klinička istraživanja konstruirali smo panel koji sadrži 372 gena povezana s 8 skupina bolesti iz spektra poremećaja imunskog sustava. Skupine bolesti obuhvaćene imunogenetskim panelom uključuju monogenetske autoinflammatoryh bolesti, poremećaje imunskih regulacija i srodne bolesti s elementima autoinflamacije (85 gena), primarne imunodeficiencije (129 gena), monogenetske oblike sistemskog eritemskog lupusa i bolesti nalik lupusu (90 gena), nedostatak komponenti komplementa i regulatornih proteina (23 gena), hemofagocitnu limfocitozu/sindrom aktivacije makrofaga (9 gena), monogenetske vaskulitise i vaskulopatije (8 gena) i ostale bolesti (leukemije, intestinalne inflamacije, autoimunosne enteropatije) zastupljene s 88 gena. Glavna je indikacija za testiranje prisutnost simptoma koji su kompatibilni za jednu ili više bolesti iz skupine bolesti obuhvaćenih imunogenetskim panelom. Varijante utvrđene sekvenciranjem imunogenetskog panela mogu se podijeliti na patogene, vjerojatno patogene, varijante nejasnog kliničkog značaja, vjerojatno benigne i benigne. Samo patogene i vjerojatno patogene varijante imaju dijagnostičko i terapijsko značenje. U cilju racionaliziranja dijagnostike u uvjetima limitiranih resursa zasad smo zadržali centralizirani pristup u testiranju, što znači da je testiranje omogućeno samo nakon prethodnog kontakta i pozitivnog mišljenja Referentnog centra za pedijatrijsku i adolescentnu reumatologiju Republike Hrvatske.

Kako je diferencijalna dijagnoza u djece s vrućicom nepoznatog uzroka izazovna, a posebno je teško razlikovati sJIA od infekcija, potrebni su novi biomarkeri. Relativno nedavno, mjerenje kalprotektina u serumu/plazmi pokazalo se kao koristan

alat koji podržava dijagnozu sJIA u febrilne djece (21). Na temelju provedenih istraživanja utvrđeno je da je serumski kalprotektin izvrstan biomarker za procjenu i praćenje aktivnosti bolesti, za predviđanje strukturne progresije ili odgovora na liječenje. Detekcija kalprotektina u serumu ili plazmi imuno-turbidimetrijskim testom brza je i jednostavna metoda koju smo tijekom 2024. uveli u rutinsku kliničku praksu.

LITERATURA

1. Chusid MJ. Fever of unknown origin in childhood. *Pediatr Clin North Am.* 2017;64(1):205–30.
2. Antoon JW, Potisek NM, Lohr JA. Pediatric fever of unknown origin. *Pediatr Rev.* 2015;36(9):380–90. doi: 10.1542/pir.36-9-380.
3. Petersdorf RG, Beeson PB. Fever of unexplained origin: report on 100 cases. *Medicine (Baltimore).* 1961;40(1):1–30. doi: 10.1097/00005792-196102000-00001.
4. Manthiram K, Edwards KM, Long SS. Prolonged, recurrent, and periodic fever syndromes. In: Long SS, Prober CG, Fischer M, Kimberlin DW, editors. *Principles and practice of pediatric infectious diseases*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2023. p. 123–34.
5. McClung HJ. Prolonged fever of unknown origin in children. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1972;124(5):544. doi: 10.1001/archpedi.1972.04100170088019.
6. Chow A, Robinson JL. Fever of unknown origin in children: a systematic review. *World J Pediatr.* 2011;7(1):5–10. doi: 10.1007/s12519-011-0253-4.
7. Hu B, Chen TM, Liu SP, et al. Fever of unknown origin (FUO) in children: a single-centre experience from Beijing, China. *BMJ Open.* 2022;12(5):e049840. doi: 10.1136/bmjopen-2021-049840.
8. Jacobs RF, Schutze GE. *Bartonella henselae* as a cause of prolonged fever and fever of unknown origin in children. *Clin Infect Dis.* 1998;26(1):80–4. doi: 10.1086/516269.
9. Reynolds S, Kadambari S, Calton E, Roland D. The child with prolonged fever: when to think zebras. *Pediatr Child Health.* 2020;30(5):261–9. doi: 10.1016/j.paed.2020.03.002.
10. Pathak S, McDermott MF, Savic S. Autoinflammatory diseases: update on classification, diagnosis, and management. *J Clin Pathol.* 2017;70(1):1–8. doi: 10.1136/jclinpath-2016-203810.
11. Jelušić M, Morović Vergles J, Gagro A, editors. *Autoinflammatory bolesti u djece i odraslih*. 1st ed. Zagreb: Medicinska naklada; 2017.
12. Kleiman MB. The complaint of persistent fever. Recognition and management of pseudo fever of unknown origin. *Pediatr Clin North Am.* 1982;29(1):201–8. doi: 10.1016/S0031-3955(16)34057-2.
13. Trapani S, Fiordelisi A, Stinco M, Resti M. Update on fever of unknown origin in children: focus on etiologies and clinical approach. *Children (Basel).* 2023;11(1):20. doi: 10.3390/children11010020.
14. Lohr JA, Hendley JO. Diagnostic review: prolonged fever of unknown origin. *Clin Pediatr (Phila).* 1977;16(9):768–73. doi: 10.1177/000992287701600903.
15. Stein RC. The white blood cell count in fevers of unknown origin. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1972;124(1):60. doi: 10.1001/archpedi.1972.02110190062007.
16. Henter JL, Horne A, Aricó M, et al. HLH-2004: diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer.* 2007;48(2):124–31. doi: 10.1002/pbc.21039.
17. Otrrock ZK, Hock KG, Riley SB, de Witte T, Eby CS, Scott MG. Elevated serum ferritin is not specific for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Ann Hematol.* 2017;96(10):1667–72. doi: 10.1007/s00277-017-3072-1.
18. Delgado J, Chauvin NA, Bedoya MA, Patel SJ, Anupindi SA. Whole-body magnetic resonance imaging in the evaluation of children with fever without a focus. *Pediatr Radiol.* 2021;51(4):605–13. doi: 10.1007/s00247-020-04884-6.
19. Pijl JP, Kwee TC, Legger GE, et al. Role of FDG-PET/CT in children with fever of unknown origin. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2020;47(7):1596–604. doi: 10.1007/s00259-020-04704-5.
20. Šestan M, Jelušić M. Kada posumnjati na autoinflamatornu bolest? *Reumatizam.* 2020;67(1):36–55.
21. Foell D, Saers M, Park C, et al. A novel serum calprotectin (MRP8/14) particle-enhanced immuno-turbidimetric assay (SCAL Turbo) helps to differentiate systemic juvenile idiopathic arthritis from other diseases in routine clinical laboratory settings. *Mol Cell Pediatr.* 2023;10(1):14. doi: 10.1186/s40348-023-00152-4.

Adresa za dopisivanje:

Dr. sc. Mario Šestan, dr. med.

Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zavod za imunologiju, reumatologiju, respiracijske i alergološke bolesti

Referentni centar za pedijatrijsku i adolescentnu reumatologiju Republike Hrvatske

Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb

E-mail: mario.sestan@gmail.com

S U M M A R Y

Diagnostic approach to a child with fever of unknown origin

Mario Šestan, Marijan Frković, Nastasia Kifer, Marija Jelušić

Fever of unknown origin is a relatively common condition in pediatrics that continues to present a diagnostic challenge. A fever of unknown (unexplained) origin in children is defined as a fever that persists for 8 days or longer, and the history, clinical examination, and basic laboratory findings have not revealed the cause of the fever. Infections are still the leading cause of fever of unknown origin in children, but in the case of prolonged fever, in addition to infections, rheumatic, autoimmune, autoinflammatory, granulomatous, malignant diseases or tumors, and other rare diseases should be considered. When approaching this problem, special attention should be paid to the history and a thorough examination, which should be repeated on several occasions. Sometimes, first-line laboratory tests, together with first-level imaging, allow us to exclude the most common and/or serious causes of fever of unknown origin and indicate whether we should continue with further workup. Subsequent workup should be directed according to the diagnostic suspicion, and further laboratory and imaging workup should be planned wisely.

Key words: FEVER OF UNKNOWN ORIGIN; CHILD; INFECTIONS; RHEUMATIC DISEASES; HEREDITARY AUTOINFLAMMATORY DISEASES; NEOPLASMS

Cijepljenje djece s upalnim reumatskim bolestima

Saša Sršen^{1,2}

Djeca oboljela od upalnih reumatskih bolesti su zbog same bolesti, kao i liječenja imunosupresivnim lijekovima, izložena povećanom riziku infekcija zaraznim bolestima. Značajnu ulogu u prevenciji tih bolesti ima cijepljenje. Stoga je važno imati jasne i jednostavne smjernice o cijepljenju navedenih bolesnika, a koje donosimo u ovom radu. Pojednostavljeno rečeno, potrebno je pratiti nacionalni kalendar cijepljenja, uz određena ograničenja, prije svega u vidu izbjegavanja cijepljenja živim atenuiranim cjepivima. Trebalo bi planirati cijepljenje prije početka liječenja imunosupresivnim lijekovima ukoliko je to moguće, kao i cijepiti djecu u mirnim fazama bolesti, ali nipošto se ne bi smjelo odlagati nužno liječenje kako bi se obavilo cijepljenje. Ključnu ulogu u planiranju provedbe cjepiva bi trebao imati liječnik specijalist koji vodi liječenje oboljelog djeteta, u koordinaciji s primarnim liječnikom pacijenta. Pored cjepiva predviđenih nacionalnim programom cijepljenja, preporučuje se sezonsko cijepljenje protiv gripe, a protiv pneumokoka cijepljenje bi trebalo provesti 10 ili 13-valentnim cjepivom. Od živih atenuiranih cjepiva u određenim okolnostima bi se mogla razmotriti primjena ponovljene (booster) doze cjepiva protiv ospica, zaušnjaka i rubeole, kao i protiv varicelle. Smatra se kao je cijepljenje adolescenata protiv COVID-19 sigurno i učinkovito.

Ključne riječi: DIJETE; ADOLESCENT; CIJEPLJENJE; REUMATSKE BOLESTI; SMJERNICE U PRAKSI

UVOD

Cijepljenje je jedno od najznačajnijih javno zdravstvenih postignuća, koje ima značajnu ulogu u prevenciji zaraznih bolesti (1). Djeca koja boluju od upalnih reumatskih bolesti imaju povećan rizik obolijevanja od zaraznih bolesti kako zbog same prirode navedenih bolesti, tako i zbog liječenja lijekovima koji slabe ili modificiraju imunološki odgovor organizma (2, 3). Kada se tome pridoda rastući trend nepovjerenja prema cjepivima, ali i medicini, znanosti i autoritetima općenito, ne čudi da imamo sve niže razine procijepljenosti kako u Hrvatskoj, tako i u svijetu (4). S obzirom na

to da bolesnici s kroničnim bolestima liječeni imunosupresivima mogu i kod liječnika koji skrbe o njima, a zaduženi su za provedbu cijepljenja, izazvati dvojbe i strahove da se ne naškodi samom pacijentu, povećava se vjerojatnost da pedijatrijski reumatološki bolesnici ostanu necijepljeni, povećavajući na taj način rizik od obolijevanja od zaraznih bolesti koje bi se cijepljenjem mogle spriječiti. Stoga je važno donijeti što jasnije i jednostavnije upute vezane uz provedbu cijepljenja kod djece oboljele od upalnih reumatskih bolesti liječene imunosupresivnom terapijom. Tog zadatka su se prihvatila brojna međunarodna i nacionalna reumatološka udruženja. U ovom članku ćemo

¹Klinika za dječje bolesti, Klinički bolnički centar Split, Spinčičeva 1, 21000 Split

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Šoltanska 2a, 21000 Split

Tablica 1. Osnovna načela za cijepljenje djece oboljele od upalnih reumatskih bolesti; preuzeto i prilagođeno iz (5).

1	Specijalist koji liječi djecu s autoimunim upalnim reumatskim bolestima trebao bi jednom godišnje procijeniti cijeplni status oboljelog djeteta, indikacije za cijepljenje cjepivima koja se ne nalaze u nacionalnom programu cijepljenja, kao i indikacije za uskratu cjepiva koja se nalaze u tom programu.
2	Cjepivo bi trebalo primijeniti u mirnoj fazi bolesti ukoliko je to moguće.
3	Ukoliko je moguće, cijepljenje bi trebalo provesti 2 – 4 tjedna prije započinjanja imunosupresivne terapije (osobito lijekovima koji dovode do deplecije B-limfocita), ali nikada se ne smije odgađati nužno liječenje radi cijepljenja.
4	Treba se pridržavati nacionalnog programa cijepljenja i općih pravila cijepljenja prilikom putovanja u strane zemlje, osim kada je u pitanju cijepljenje imunosuprimiranih pacijenata živim atenuiranim cjepivima.*
5	Pacijenti liječeni glukokortikoidima i lijekovima koji modificiraju tijek bolesti (DMARD, engl. <i>disease-modifying antirheumatic drugs</i>) mogu se cijepiti neživim cjepivima.
6	Cijepljenje imunosuprimiranih* pacijenata živim atenuiranim cjepivima bi trebalo izbjegavati, osim ponovljene doze MoPaRu cjepiva ili cijepljenja protiv varicelle u posebnim okolnostima.

*Imunosuprimiranost je definirana u tekstu.

MoPaRu cjepivo – cjepivo protiv ospica, zaušnjaka i rubeole.

Tablica 2. Preporuke za cijepljenje djece oboljele od upalnih reumatskih bolesti; preuzeto i prilagođeno iz (5).

1.	Trebalo bi ozbiljno razmotriti cijepljenje djece oboljele od upalnih reumatskih bolesti liječene glukokortikoidima ili DMARD-ovima neživim sezonskim cjepivom protiv gripe
2.	Preporučuje se cijepljenje sve djece oboljele od upalnih reumatskih bolesti 10-valentnim ili 13-valentnim cjepivom protiv pneumokoka ukoliko do sada nisu bila cijepljena
3.	Cijepljenje protiv tetanusa bi se trebalo provoditi prema preporukama koje važe za opću populaciju. Ukoliko je indicirano cijepljenje cjepivom koje sadrži tetanusni toksoid kod bolesnika koji su tijekom prethodnih 6 mjeseci liječeni lijekovima koji dovode do deplecije B-limfocita, preporučuje se pasivna imunizacija.
4.	Trebalo bi ozbiljno razmotriti cijepljenje cjepivom protiv humanog papilloma virusa u necijepljenih pacijenata oboljelih od sistemskog eritemskog lupusa.
5.a)	Ponovljene doze cjepiva MoPaRu se mogu primijeniti kod bolesnika liječenih metotreksatom.
5.b)	Može se razmotriti primjena ponovljene doze cjepiva MoPaRu kod bolesnika liječenih niskim dozama glukokortikoida, blokatorima TNF- α , IL-1 ili IL-6.
6.a)	Trebalo bi ozbiljno razmotriti cijepljenje protiv varicella zoster virusa kod bolesnika liječenih metotreksatom koji nisu preboljeli niti su cijepljeni protiv varicelle.
6.b)	Trebalo bi razmotriti cijepljenje protiv varicella zoster virusa kod bolesnika liječenih niskim dozama glukokortikoida, blokatorima TNF- α , IL-1 ili IL-6 koji nisu preboljeli niti su cijepljeni protiv varicelle.
7.	Trebalo bi izbjegavati cijepljenje protiv žute groznice kod svih imunosuprimiranih* pacijenata.

*Imunosuprimiranost je definirana u tekstu.

MoPaRu cjepivo – cjepivo protiv ospica, zaušnjaka i rubeole.

TNF – tumor necrosis factor.

IL – interleukin.

iznijeti aktualne smjernice za cijepljenje djece oboljele od upalnih reumatskih bolesti, temeljene prije svega na preporukama Europskog udruženja reumatoloških društava (EULAR, engl. *European Alliance of Associations for Rheumatology*,) i Europskog društva za pedijatrijsku reumatologiju (PRES, engl. *Pediatric Rheumatology European Society*) iz 2021. godine, ali i drugih nacionalnih i međunarodnih društava (5).

Smjernice EULAR/PRES iz 2021. godine

Prema revidiranim smjernicama koje su 2021. godine donijeli EULAR i PRES, preporuke za cijepljenje djece su upalnim reumatskim bolestima su

sažete u 6 osnovnih načela i 7 preporuka (Tablice 1. i 2.) (5).

OSNOVNA NAČELA

1.) Specijalist koji liječi djecu s autoimunim upalnim reumatskim bolestima trebao bi jednom godišnje procijeniti cijeplni status oboljelog djeteta, indikacije za cijepljenje cjepivima koja se ne nalaze u nacionalnom programu cijepljenja, kao i indikacije za uskratu cjepiva koja se nalaze u tom programu.

Ako se ne zna tko je odgovoran za donošenje odluke o cijepljenju oboljelog djeteta, to će rezultirati niskom stopom procijepljenosti. Stručnjaci

EULAR/PRES-a smatraju kako su upravo liječnici specijalisti koji skrbe o oboljelima oni koji imaju najviše znanja o navedenim bolestima, lijekovima kojima se oboljeli liječe i stupnju aktivnosti bolesti te bi upravo oni trebali biti ti koji će barem jednom godišnje donositi odluke o cijepljenju, o potrebi eventualnog docjepljivanja dodatnim dozama ili cjepivima koja nisu u nacionalnom programu cijepljenja, kao i preskakanja cjepiva koja jesu u programu cijepljenja ukoliko za to postoji razlog (5).

2.) Cjepivo bi trebalo primijeniti u mirnoj fazi bolesti ako je to moguće.

Još uvijek nije do kraja istražen utjecaj aktivnosti bolesti na učinkovitost i sigurnost cijepljenja i nije poznato da li visoki stupanj aktivnosti bolesti može pridonijeti slabijoj učinkovitosti i većim rizicima cijepljenja (prije svega povezano s visokim dozama imunosupresivnih lijekova koje se često primjenjuju kod tih bolesnika). Stoga stručnjaci smatraju kako je kad god je to moguće poželjno bolesnike cijepiti u mirnoj fazi bolesti, iako ne postoje apsolutne kontraindikacije za cijepljenje oboljelih i u visoko aktivnoj bolesti (5).

3.) Ukoliko je moguće, cijepljenje bi trebalo provesti 2 – 4 tjedna prije započinjanja imunosupresivne terapije (osobito lijekovima koji dovode do deplecije B-limfocita), ali nikada se ne smije odgađati nužno liječenje radi cijepljenja.

Iako su istraživanja koja ispituju odgovor imunološkog sustava na cijepljenje provedena mahom na odrasloj populaciji, a tek u manjoj mjeri na djeci, smatra se kako terapija imunosupresivnim lijekovima snižava odgovor imunološkog sustava na primjenu cjepiva. Pritom su snažniji učinak imali lijekovi poput metotreksata ili glukokortikoida u višim dozama, dok lijekovi poput inhibitora TNF- α , blokatora IL-6, IL-1 ili abatacepta nisu utjecali na postizanje zaštitnih razina protutijela (6 – 12). Najsnažniji učinak su imali rituksimab nakon čije primjene bi sljedećih 6 mjeseci izostao ili bio umanjnjen humoralni odgovor na cjepivo, kao i intravenski imunoglobulini gdje se u 9 mjeseci nakon liječenja Kawasakijske bolesti bilježe niski titrovi protutijela nakon cijepljenja (13, 14).

Zbog toga EULAR i PRES preporučuju planirati cjepiva prije imunosupresivne terapije, ali nipošto odgađati nužno liječenje radi cijepljenja. Ako nismo sigurni je li cijepljenje bilo učinkovito, može

se naknadno odrediti razina protutijela i po potrebi provesti docjepljivanje (5).

4.) Treba se pridržavati nacionalnog programa cijepljenja i općih pravila cijepljenja prilikom putovanja u strane zemlje, osim kada je u pitanju cijepljenje imunosuprimiranih pacijenata živim atenuiranim cjepivima.

U ovim smjernicama imunosuprimiranim pacijentima se smatraju sljedeći: djeca liječena prednizolonom u dozi ≥ 0.5 mg/kg/dan tijekom 2 ili više tjedana, ciklosporinom u dozi > 2.5 mg/kg/dan, azatioprinom u dozi ≥ 3 mg/kg/dan, oralnim ciklofosfamidom u dozi > 2 mg/kg/dan, leflunomidom u dozi ≥ 0.5 mg/kg/dan, mikofenolat mofetilom u dozi ≥ 30 mg/kg/dan ili > 1000 mg/dan, metotrexatomu dozi ≥ 15 mg/m² tjedno ili ≥ 25 mg/tjedan ili takrolimusom u dozi > 1.5 mg/dan. Svi bolesnici liječeni biološkim lijekovima ili ciljanim sintetičkim lijekovima koji utječu na tijek bolesti (JAK-inhibitori, apremilast) se smatraju imunosuprimiranim.

Ovo načelo je istaknuto zbog naglašavanja potrebe povodačenja nacionalnih programa cijepljenja jer djeca s upalnim reumatskim bolestima imaju značajno niže stupnjeve procijepljenosti, kao i zbog isticanja posebne pozornosti na živa atenuirana cjepiva (5).

5.) Pacijenti liječeni glukokortikoidima i lijekovima koji modificiraju tijek bolesti (DMARD, engl. *disease-modifying antirheumatic drugs*) mogu se cijepiti neživim cjepivima.

Postoji dovoljan broj dokaza da se djeca liječena ovim lijekovima mogu cijepiti neživim cjepivima bez rizika i postići zadovoljavajući imunološki odgovor (5).

6.) Cijepljenje imunosuprimiranih pacijenata živim atenuiranim cjepivima bi trebalo izbjegavati, osim ponovljene doze MoPaRu cjepiva ili cijepljenja protiv varicelle u posebnim okolnostima.

Cijepljenje ovim cjepivima može dovesti do infekcije oslabljenim patogenom iz cjepiva. Iznimka od ovog pravila je primjena cjepiva protiv ospica, zaušnjaka i rubeole, odnosno protiv varicelle kod bolesnika liječenih metotrexatom ili biološkim lijekovima, o čemu će biti riječi i u preporukama 5 i 6 (5).

PREPORUKE

1.) Trebalo bi ozbiljno razmotriti cijepljenje djece s upalnim reumatskim bolestima liječene imuno-

supresivima neživim sezonskim cjepivom protiv gripe.

Cjepivo protiv gripe nije dio nacionalnog programa cijepljenja, ali smatra se da su djeca s upalnim reumatskim bolestima liječena imunosupresivima izložena povećanom riziku obolijevanja od gripe, dok je cjepivo sigurno i imunogenično te bi stoga bilo uputno ozbiljno razmotriti cijepljenje neživim cjepivima protiv gripe. Živa atenuirana cjepiva protiv gripe bi s druge strane trebalo izbjegavati (5).

2.) Preporučuje se cijepljenje sve djece oboljele od upalnih reumatskih bolesti 10-valentnim ili 13-valentnim cjepivom protiv pneumokoka ako do sada nisu bila cijepljena.

Streptococcus Pneumoniae je jedan od najčešćih patogena koji može izazvati teške infekcije (invazivnu pneumokoknu bolest). Nakon uvođenja 7-valentnog cjepiva u programe obveznog cijepljenja uočen je značajan pad pobola serotipovima koji su obuhvaćeni cjepivom. Istraživanja su pokazala kako su 10 i 13-valentna cjepiva protiv pneumokoka sigurna i učinkovita kod djece s upalnim reumatskim bolestima liječene imunosupresivima. Sigurnost i učinkovitost 23-valentnog cjepiva u ovoj populaciji nije još dovoljno istražena, iako bi moglo biti korisno kod djece oboljele od sistemskog eritemskog lupusa (SLE) i imunosuprimirane djece. S druge strane ovo cjepivo je povezano s ozbiljnim nuspojavama kod djece koja boluju od periodičnog sindroma povezanog s kriopirinom (CAPS, engl. *cryopirin associated periodic syndrome*).

Stoga EULAR i PRES preporučuju cijepljenje sve djece s upalnim reumatskim bolestima 10 ili 13-valentnim cjepivom protiv pneumokoka. Može se razmotriti cijepljenje 23-valentnim cjepivom kod djece oboljele od SLE i imunosuprimiranih bolesnika jednom u 5 godina, dok bi to cjepivo trebalo izbjegavati kod djece oboljele od CAPS-a (5).

3.) Cijepljenje protiv tetanusa bi se trebalo provoditi prema preporukama koje važe za opću populaciju. Ako je indicirano cijepljenje cjepivom koje sadrži tetanusni toksoid kod bolesnika koji su tijekom prethodnih 6 mjeseci liječeni lijekovima koji dovode do deplecije B-limfocita, preporučuje se pasivna imunizacija.

Istraživanja su pokazala kako djeca s upalnim reumatskim bolestima imaju snižene vrijednosti za-

štitnih protutijela protiv tetanusa te se u slučaju potrebe preporučuje primijeniti booster dozu, ali kod bolesnika koji su posljednjih 6 mjeseci bili liječeni lijekovima koji dovode do deplecije B-limfocita, u slučaju potrebe preporučuje se pasivna imunizacija (5).

4.) Trebalo bi ozbiljno razmotriti cijepljenje cjepivom protiv humanog papilloma virusa (HPV) u ne-cijepljenih pacijenata oboljelih od sistemskog eritemskog lupusa.

Djevojke oboljele od SLE imaju povišen rizik infekcija HPV-om i premalignih stanja vezanih uz infekciju. Stoga EULAR i PRES preporučuju cijepljenje unatoč nedovoljnom broju dokaza o učinkovitosti cjepiva, s obzirom na to da se cjepivo pokazalo sigurnim, uz postizanje zadovoljavajućih seroprotektivnih titrova protutijela nakon cijepljenja (5).

5.) a) Ponovljene doze cjepiva MoPaRu (protiv ospica, zaušnjaka i rubeole) se mogu primijeniti kod bolesnika liječenih metotreksatom; b) Može se razmotriti primjena ponovljene doze cjepiva MoPaRu kod bolesnika liječenih niskim dozama glukokortikoida, blokatorima TNF- α , IL-1 ili IL-6.

Postoji značajan broj istraživanja koja su obuhvatala veliki broj pacijenata liječenih metotreksatom koja su pokazala kako cijepljenje ponovljenom (booster) dozom MoPaRu cjepiva nije izazvalo infekciju atenuiranim virusom niti egzacerbaciju bolesti, uz istovremeno postizanje značajnog titra protutijela. Što se tiče cijepljenja bolesnika liječenih glukokortikoidima i biološkim lijekovima, razina dokaza o učinkovitosti i sigurnosti je niža, ali prema svemu sudeći, cijepljenje bi također trebalo biti sigurno i učinkovito (5).

6.) a) Trebalo bi ozbiljno razmotriti cijepljenje protiv varicella zoster virusa (VZV) kod bolesnika liječenih metotreksatom koji nisu preboljeli niti su cijepljeni protiv varicelle. b) Trebalo bi razmotriti cijepljenje protiv varicella zoster virusa kod bolesnika liječenih niskim dozama glukokortikoida, blokatorima TNF- α , IL-1 ili IL-6 koji nisu preboljeli niti su cijepljeni protiv varicelle.

Za razliku od opće populacije u kojoj su vodene kozice najčešće blaža, samoograničavajuća bolest, kod djece s upalnim reumatskim bolestima postoji povišen rizik teških infekcija i diseminirane bolesti. Cijepljenje cjepivom protiv VZV-a kod imunosuprimiranih se pokazalo uglavnom sigurno

Tablica 3. Preporuke ACR za liječenje imunosupresivima u vremenskom razdoblju oko cijepljenja živim atenuiranim cjepivom; preuzeto i prilagođeno iz (20).

	Prekid prije primjene živih atenuiranih cjepiva	Prekid nakon živih atenuiranih cjepiva
Glukokortikoidi, metotreksat, azatioprin, leflunomid, mikofenolat mofetil, inhibitori kalcineurina, oralni ciklofosfamid	4 tjedna	4 tjedna
JAK inhibitori	1 tjedan	4 tjedna
TNF inhibitori, inhibitori IL-6, inhibitori IL-1, abatacept, anifrolumab, intravenski ciklofosfamid	1 interval doziranja	4 tjedna
rituksimab	6 mjeseci	4 tjedna
IVIG		
300 – 400 mg/kg	8 mjeseci	4 tjedna
1 g/kg	10 mjeseci	4 tjedna
2 g/kg	11 mjeseci	4 tjedna

nim, uglavnom ne izazivajući infekcije cjepnim sojem ili pak izazivajući blage infekcije koje se mogu liječiti aciklovirom. Stoga bi trebalo odvagati koliki je rizik cijepljenja nasuprot riziku infekcije samim virusom kod djece koja nisu cijepljena niti su preboljela vodene kozice, imajući u vidu kako postoji veći broj znanstvenih dokaza o sigurnosti cijepljenja pacijenata liječenih metotrekstom u odnosu na glukokortikoide i biološke lijekove. U svakom slučaju zbog cijepljenja se ne bi trebalo prekidati liječenje osnovne bolesti, zbog rizika od egzacerbacije osnovne bolesti (5).

7.) Trebalo bi izbjegavati cijepljenje protiv žute groznice kod svih imunosuprimiranih pacijenata.

Nema podataka o sigurnosti primovakcinacije protiv žute groznice kod djece oboljele od upalnih reumatskih bolesti liječenih imunosupresivima te EULAR i PRES preporučuju izbjegavanje cijepljenja tim cjepivom kod imunosuprimirane djece (5).

MIŠLJENJA DRUGIH STRUČNIH DRUŠTAVA

Pored zajedničkih preporuka EULAR-a i PRES-a i druga nacionalna i međunarodna društva su donosila svoja mišljenja i preporuke vezana uz cijepljenje djece s upalnim reumatskim bolestima. Tako se stavovi španjolskog i japanskog društva za pedijatrijsku reumatologiju u najvećoj mjeri poklapaju sa smjernicama EULAR-a i PRES-a, baš kao i stavovi turskih stručnjaka izneseni u preglednom članku iz 2017. godine (15 – 17).

Postoje određene situacije i stanja koja nisu obuhvaćena preporukama EULAR-a i PRES-a. Jedna

od njih je pitanje cijepljenja djece oboljele od reumatskih bolesti cjepivom protiv SARS-CoV-2 virusa, uzročnika COVID-19. S obzirom na to da je riječ o novoj bolesti i novom cjepivu, logično je da snaga znanstvenih dokaza nije jednaka onoj kod cjepiva koja se koriste desetljećima, ali prema dosadašnjim podacima, cjepiva protiv COVID-19 bi trebala biti sigurna i učinkovita u ovoj populaciji te stručnjaci iz Radne skupine PRES-a za cijepljenje smatraju kako bi trebalo poticati cijepljenje reumatskih bolesnika adolescentne dobi (12 – 18 godina) ovim cjepivom (18).

U EULAR-ovim smjernicama za cijepljenje adultnih bolesnika oboljelih od upalnih reumatskih bolesti, navodi se potreba izbjegavanja cijepljenja živim atenuiranim cjepivima novorođenčadi majki liječenih biološkim lijekovima u drugoj polovici trudnoće tijekom prvih 6 mjeseci djetetovog života (19). S obzirom na to da su ove situacije ipak rijetke u pedijatrijskoj populaciji, nije neobično da nisu obuhvaćene preporukama za pedijatrijsku već onima za adultnu populaciju.

Američko reumatološko društvo (ACR, engl. *American College of Rheumatology*) je u svojim smjernicama za cijepljenje adultnih pacijenata s upalnim reumatskim bolestima donijelo preporuke o liječenju imunosupresivima u vremenu oko cijepljenja živim atenuiranim cjepivima, koje možemo uzeti u obzir, pritom imajući u vidu 3. osnovno načelo preporuka EULAR-a i PRES-a koje kaže da se nužno liječenje ne smije prekidati ili odgađati zbog cijepljenja. Preporuke ACR-a se nalaze u Tablici 3 (20).

ZAKLJUČAK

S napretkom liječenja upalnih reumatskih bolesti kod djece, jako je važno voditi računa o prevenciji infekcija, u čemu ključnu ulogu ima cijepljenje, kojeg se ne treba bojati niti ga treba izbjegavati. U načelu treba slijediti nacionalne programe cijepljenja, uz određene prilagodbe, prije svega u vidu izbjegavanja živih atenuiranih cjepiva u djece liječene imunosupresivima, a u slučaju bilo kakve nedoumice, svakako bi trebalo konzultirati reumatologa koji liječi dijete i koji bi trebao imati ključnu ulogu u planiranju provedbe cijepljenja oboljele djece.

Kratice:

EULAR	- Europsko udruženje reumatoloških društava (engl. <i>European Alliance of Associations for Rheumatology</i>)
PRES	- Europsko društvo za pedijatrijsku reumatologiju (engl. <i>Pediatric Rheumatology European Society</i>)
TNF	- čimbenik nekroze tumora (engl. <i>tumor necrosis factor</i>)
IL	- interleukin
JAK	- Janus kinaza
DMARD	- lijekovi koji modificiraju tijek bolesti (engl. <i>disease-modifying antirheumatic drugs</i>)
MoPaRu	- ospice, zaušnjaci i rubeola
SLE	- sistemski eritemski lupus
CAPS	- peridični sindrom povezan s kriopirinom (engl. <i>cryopyrin associated periodic syndrome</i>)
HPV	- humani papilloma virus
VZV	- varicella zoster virus
SARS – CoV – 2	- koronavirus 2 koji uzrokuje teški akutni respiratorni sindrom (engl. <i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i>)
COVID-19	- bolest uzrokovana koronavirusom 2019 (engl. <i>Corona virus disease 2019</i>)
ACR	- Američko reumatološko društvo (engl. <i>American College of Rheumatology</i>)

LITERATURA

1. Ada G. The importance of vaccination. *Front Biosci.* 2007;12:1278–90. doi: 10.2741/2146.
2. Doran MF, Crowson CS, Pond GR, O'Fallon WM, Gabriel SE. Frequency of infection in patients with rheumatoid arthritis compared with controls: a population-based study. *Arthritis Rheum.* 2002;46(9):2287–93. doi: 10.1002/art.10524.
3. Falagas ME, Manta KG, Betsi GI, Pappas G. Infection-related morbidity and mortality in patients with connective tissue diseases: a systematic review. *Clin Rheumatol.* 2007;26(5):663–70. doi: 10.1007/s10067-006-0441-9.
4. Dubé E, Vivion M, MacDonald NE. Vaccine hesitancy, vaccine refusal and the anti-vaccine movement: influence, impact and implications. *Expert Rev Vaccines.* 2015;14(1):99–117. doi: 10.1586/14760584.2015.964212.
5. Jansen MHA, Rondaan C, Legger GE, et al. EULAR/PRES recommendations for vaccination of paediatric patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases: update 2021. *Ann Rheum Dis.* 2023;82(1):35–47. doi: 10.1136/annrheumdis-2022-222574.
6. Hua C, Barnetche T, Combe B, Morel J. Effect of methotrexate, anti-tumor necrosis factor α , and rituximab on the immune response to influenza and pneumococcal vaccines in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2014;66(7):1016–26. doi: 10.1002/acr.22246.
7. Shinoki T, Hara R, Kaneko U, et al. Safety and response to influenza vaccine in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis receiving tocilizumab. *Mod Rheumatol.* 2012;22(6):871–6. doi: 10.1007/s10165-012-0595-z.
8. Toplak N, Avcin T. Safety and efficacy of varicella vaccination in children with JIA treated with biologic therapy. *Pediatr Rheumatol.* 2014;12.
9. Tsuru T, Terao K, Murakami M, et al. Immune response to influenza vaccine and pneumococcal polysaccharide vaccine under IL-6 signal inhibition therapy with tocilizumab. *Mod Rheumatol.* 2014;24(3):511–6. doi: 10.3109/14397595.2013.843743.
10. Jaeger VK, Hoffman HM, van der Poll T, et al. Safety of vaccinations in patients with cryopyrin-associated periodic syndromes: a prospective registry-based study. *Rheumatology (Oxford).* 2017;56(9):1484–91. doi: 10.1093/rheumatology/kex185.
11. Maritsi DN, Vartzelis G, Kossiva L, Vougiouka O, Garoufi A. The response to the inactivated Hepatitis A vaccine in children with autoinflammatory diseases: a prospective observational controlled study. *Rheumatology (Oxford).* 2016;55(9):1705–6. doi: 10.1093/rheumatology/kew239.
12. Brunner HI, Tzaribachev N, Cornejo GV, et al.; Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group and the Paediatric Rheumatology International Trials Organisation. Maintenance of antibody response to diphtheria/tetanus vaccine in patients aged 2–5 years with polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis receiving subcutaneous abatacept. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2020;18(1):19. doi: 10.1186/s12969-020-0410-x.
13. Gorelik M, Elizalde A, Wong Williams K, Gonzalez E, Cole JL. Immunogenicity of sequential 13-valent conjugated and 23-valent unconjugated pneumococcal vaccines in a

- population of children with lupus. *Lupus*. 2018;27(14): 2228–35. doi: 10.1177/0961203318808589.
14. Tacke CE, Smits GP, van der Klis FR, Kuipers IM, Zaaier HL, Kuijpers TW. Reduced serologic response to mumps, measles, and rubella vaccination in patients treated with intravenous immunoglobulin for Kawasaki disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(6):1701–3. doi: 10.1016/j.jaci.2013.01.045.
 15. Kobayashi I, Mori M, Yamaguchi K, et al. Pediatric Rheumatology Association of Japan recommendation for vaccination in pediatric rheumatic diseases. *Mod Rheumatol*. 2015;25(3):335–43. doi: 10.3109/14397595.2014.969916.
 16. Clemente Garulo D, Núñez-Cuadros E, Camacho Lovillo M, et al. Position statement on infection screening, prophylaxis, and vaccination in pediatric patients with rheumatic diseases and immunosuppressive therapies, part 2: infection prophylaxis. *Eur J Pediatr*. 2023;182(9):4271–84. doi: 10.1007/s00431-023-05080-3.
 17. Açar C, Ünsal E. Current information about vaccination practice in pediatric rheumatic diseases and recommendations for future applications. *Turk J Pediatr*. 2017;59(4):357–68. doi: 10.24953/turkped.2017.04.001.
 18. Bizjak M, Heshin-Bekenstein M, Jansen MHA, et al.; PReS Vaccination Working Party. Vaccinology in pediatric rheumatology: past, present and future. *Front Pediatr*. 2023; 10:1098332. doi: 10.3389/fped.2022.1098332.
 19. Furer V, Rondaan C, Heijstek MW, et al. 2019 update of EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*. 2020;79(1):39–52. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215882.
 20. Bass AR, Chakravarty E, Akl EA, et al. 2022 American College of Rheumatology guideline for vaccinations in patients with rheumatic and musculoskeletal diseases. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2023;75(3):449–64. doi: 10.1002/acr.25045.

Adresa za dopisivanje:

Saša Sršen, dr. med.

Klinika za dječje bolesti, Klinički bolnički centar Split
Spinčićeva 1, 21000 Split
E-mail: ssrsen@kbsplit.hr

SUMMARY

Vaccination of children with inflammatory rheumatic diseases

Saša Sršen

Children with autoimmune inflammatory rheumatic diseases are exposed to an increased risk of infection with infectious diseases due to the disease itself, as well as treatment with immunosuppressive drugs. Vaccination plays a significant role in the prevention of these diseases. Therefore, it is important to have clear and simple guidelines for vaccinating these patients, which we present in this paper. Shortly, it is necessary to follow the national vaccination calendar, with certain restrictions, primarily in the form of avoiding vaccination with live attenuated vaccines. Vaccination should be planned before the start of treatment with immunosuppressive drugs if possible, as well as vaccinating children in quiet stages of the disease, but in no case should necessary treatment be postponed to carry out vaccination. The specialist who is treating a patient with autoimmune rheumatic disease, in coordination with the patient's primary doctor, should have a key role in planning the implementation of the vaccine. In addition to the vaccines provided by the national vaccination program, seasonal influenza vaccination is recommended, while pneumococcal vaccination should be carried out with a 10- or 13-valent vaccine. Of the live attenuated vaccines, in certain circumstances, the use of a booster dose of the measles, mumps, and rubella vaccine, as well as the varicella vaccine, could be considered. Vaccination of adolescents against COVID-19 is considered safe and effective.

Key words: CHILD; ADOLESCENT; VACCINATION; RHEUMATIC DISEASES; PRACTICE GUIDELINE

Kardiologija

Cardiology

Pristup liječenju kronične srčane insuficijencije u djece

Neven Čače*

Srčana insuficijencija u djece predstavlja važan uzrok morbiditeta i mortaliteta u djece. U pedijatrijskoj populaciji mnogobrojni, raznoliki uzroci dovode do razvoja srčane insuficijencije. Najčešće do srčane insuficijencije dovode prirođene srčane greške, kardiomiopatije koje mogu biti nasljedne i stečene, ali i razni drugi infektološki, metabolički i genetski poremećaji.

Zbog ove etiološke heterogenosti pristup djetetu sa srčanom insuficijencijom mora biti individualiziran. Ako je to moguće, potrebno je liječiti bolest u podlozi. U odrasloj populaciji su dobro razrađeni algoritmi kako u dijagnostici, tako i u liječenju srčane insuficijencije. Istraživanja novih lijekova u odrasloj dobi su stalna dok je u dječjoj dobi, prvenstveno zbog heterogenosti populacije i relativno malog broja ispitanika, to teže učiniti. Stoga moramo nastaviti oprezno pratiti istraživanja na adultnoj populaciji i nadati se da će daljnja istraživanja u djece dovesti do primjene novijih lijekova.

Ključne riječi: ZATAJENJE SRCA; DIJETE; TERAPIJA

UVOD

Srčana insuficijencija (zatajivanje) u djece predstavlja značajan uzrok morbiditeta i mortaliteta u djetinjstvu. U pedijatrijskoj dobi srčana insuficijencija se najčešće razvija kao posljedica prirođene srčane greške (PSG) ili kardiomiopatije za razliku od odraslih gdje je srčana insuficijencija najčešće posljedica ishemijskih promjena (1). Srčana insuficijencija je sindrom koji je uzrokovan niskim minutnim volumenom, ali i specifičnim neurohormonalnim i molekularnim poremećajima (2). U djece se srčano zatajivanje razvija ili zbog strukturnih poremećaja srca kao što su PSG i kardiomiopatije ili srčane disfunkcije koja se razvija zbog poremećaja ritma, infekcije i upalnih bolesti, metaboličkih sindroma, bubrežne insuficijencije, malignoma i sl. Etiologija srčane insuficijencije u djece je raznolika, stoga su za prepoznavanje i liječenje

potrebna posebna znanja. Glavni uzroci razvoja srčane insuficijencije navedeni su u Tablici 1. Kardiomiopatije mogu biti kongenitalne, ali i stečene koje se mogu razviti u sklopu teške infekcije kao sistolička disfunkcija rada klijetki ili zbog preopterećenja (engl. *overload*) srčanih šupljina kod teških anemija, velikih arteriovenskih fistula ili tireotoksikoze (3, 4).

Djeca s PSG relativno često razviju srčanu insuficijenciju kao ozbiljan klinički problem koji zahtijeva multidisciplinarni pristup. Značajan napredak u razvoju liječenja, kako farmakološkog tako i kirurškog, doveo je do toga da će najveći dio djece s PSG preživjeti do odrasle dobi. Uzroci srčane insuficijencije u ovih pacijenata su različiti. Kompleksnost srčanih grešaka i kirurško liječenje kojim nije moguće u potpunosti korigirati srčanu grešku, neoperirane srčane greške ili ostatni problemi

* Klinika za pedijatriju, KBC Rijeka, Vjekoslava Dukića 7, 51000 Rijeka

Tablica 1. Etiologija srčane insuficijencije u djece

Tip nastanka	Mehanizam nastanka i primjeri
Prirođena srčana greška	Lijevo desni pretok – preopterećenje volumenom (ventrikulski septalni defekt, kompletni atrioventrikulski kanal) Valvularna insuficijencija – preopterećenje volumenom (aortna ili mitralna insuficijencija) Opstrukcija izlaznog trakta – tlačno opterećenje (aortna stenoza, pulmonalna stenoza, stenoza pulmonalnih vena) Koronarna insuficijencija (anomalije koronarnih arterija)
Kardiomiopatije	Sistolička disfunkcija – nizak minutni volumen (dilatativna kardiomiopatija) Dijastolička disfunkcija – povišen tlak u pulmonalnim kapilarama (miokarditis, neuromišićne distrofije, hipertrofične kardiomiopatije, Pompe, Noonan, mitohondrijske bolesti, majčin dijabetes, restriktivna kardiomiopatija)
Aritmije	Sistolička disfunkcija – nizak minutni volumen (tahikardijom inducirana kardiomiopatija, atrioventrikularna nodalna reentry tahikardija, ektopična atrijska tahikardija)
Infekcije	Sistolička disfunkcija (sepsom inducirana disfunkcija miokarda)
„High output state“	Preopterećenje volumenom (tireotoksikoza, sistemska arteriovenska fistula, teška anemija)

Tablica 2. Rossova klasifikacija za srčanu insuficijenciju u djece

I stupanj	Asimptomatski
II stupanj	Blaga tahipneja ili znojenje tijekom hranjenja dojenčeta Dispneja u naporu u starijeg djeteta
III stupanj	Značajna tahipneja ili znojenje tijekom hranjenja u dojenčeta. Produženo vrijeme hranjenja udruženo sa slabim napredovanjem Značajna dispneja u naporu u starijeg djeteta
IV stupanj	Tahipneja, dispneja, uvlačenje interkostalnih prostora, stenjanje znojenje u mirovanju.

značajno doprinose pogoršanju funkcije miokarda i razvoju srčane insuficijencije u djece i adolescenata. Prema autorima iz Finskog nacionalnog registra do 40 % pacijenata s kongenitalnom srčanom greškom su razvili srčanu insuficijenciju unutar 20 godina nakon kardiokirurške operacije (5). Razvoju srčanog zatajivanja u djece s PSG doprinose pojačani stres miokarda zbog neodgovarajućih tlakova ili opterećenja volumenom, ishemijska oštećenja zbog cijanoze ili slabog koronarnog protoka, izlaganje ekstrakorporalnoj cirkulaciji (6). Ti razlozi aktiviraju citokine, neurohormone, inflamaciju i ventrikularno remodeliranje što dovodi do oštećenja ventrikularne funkcije (7). S obzirom na raznolikost stanja koja dovode do razvoja srčane insuficijencije u djece, potrebno je detaljno provesti dijagnostički postupak, a zatim pristupiti liječenju koje se temelji na farmakološkim, nefarmakološkim i invazivnim postupcima kojima bi se poboljšala kvaliteta života i preživljenje pacijenata (4, 8).

Klinička prezentacija srčane insuficijencije u djece ovisi o dobi djeteta. U dojenčadi i male djece prvi

znak srčane insuficijencije su poteškoće pri hranjenju (umaranje, dugo hranjenje), ali i ubrzano disanje, tahikardija i pojačano znojenje. Veća djeca se žale na umor, otežano i ubrzano disanje, nepodnošenje napora. Težinu srčane insuficijencije bi trebali klasificirati prema modificiranoj Ross klasifikaciji koja prepoznaje 4 stupnja koji su prikazani u Tablici 2. Modifikacija Ross klasifikacije ovisna o dobi djeteta (age-based) se dalje evaluira (9).

Od izrazite važnosti za praćenje težine kliničke slike, progresije ili uspješnosti liječenja su neinvazivni dijagnostički alati koji se moraju koristiti u praćenju pacijenata poput radiograma prsnih organa, elektrokardiografije (EKG), ehokardiografije (Echo), laboratorijskih nalaza, magnetske rezonance (MRI), kateterizacije srca (10, 11).

DIJAGNOSTIČKI PRISTUP

Radiogramom prsnih organa procijenjuje se veličina i oblik srčane sjene, te otkrivaju zastojne promjene u smislu pojačanog hilovaskularnog crteža ili u vidu plućnog edema ili pleuralnog izljeva (12).

Elektrokardiogram (EKG) – sinusna tahikardija je uobičajena u djece sa srčanom insuficijencijom. Mogu se otkriti i poremećaji ritma koji mogu dovesti do razvoja srčane insuficijencije.

Ehokardiografija (Echo) – je zbog svoje ponovljivosti i niskih troškova najvažnija i najkorisnija neinvazivna metoda za prepoznavanje i praćenje djece sa srčanom insuficijencijom. Njome ćemo prepoznati strukturne abnormalnosti, izmjeriti veličinu srčanih šupljina i debljinu zidova, odrediti

sistoličku i dijastoličku funkciju klijetki i tlakove u plućnoj cirkulaciji. Ti podatci su od izrazite važnosti kako bi mogli pravilno liječiti pacijenta i kontinuirano pratiti pogoršanje, odnosno poboljšanje stanja (13, 14).

LABORATORIJSKI NALAZI

Potrebno je napraviti osnovne laboratorijske nalaze kao što su krvna slika (anemija pogoršava srčanu insuficijenciju; leukocitoza može ukazati na infekciju u pozadini), elektrolitski status (hiponatrijemija – kao znak povećanja van staničnog volumena; hipokalijemija – posljedica prekomjernog korištenja diuretika; hiperkalijemija – znak značajnog sniženja glomerularne filtracije), testovi bubrežne i jetrene funkcije, hormoni štitnjače (i hiper i hipotireoza mogu uzrokovati srčanu insuficijenciju), analiza plinova u krvi, laktati – označavaju slabu perfuziju tkiva, a dobar je u praćenju odgovora na terapiju.

Troponin I i troponin T su od izrazite važnosti u sumnji na miokarditis ili ishemiju.

NT-proBNP (N-terminalni pro-B-tip natriuretski peptid) je ključni biomarker u dijagnostici i praćenju srčane insuficijencije kod djece. Ovaj biomarker se oslobađa kao odgovor na preopterećenje srca i pomaže u procjeni težine bolesti. Njime možemo pratiti odgovor na uspjeh terapije i dugoročnu prognozu stanja pacijenata (7). U djece povišene vrijednosti NT-proBNP-a koreliraju s povećanim volumnim opterećenjem u srčanim šupljinama i funkcijom klijetki, tlačnim opterećenjem i s lošijim kliničkim stanjem (15, 16). Korištenje NT-proBNP-a u kombinaciji s ehokardiografskim parametrima poboljšava dijagnostičku preciznost i omogućava prilagodbu terapijskih strategija (17). Kao biomarkeri za procjenu težine kliničke slike bi se mogli koristiti inzulinu sličan čimbenik rasta 1 (IGF-1, engl. *insulin-like growth faktor 1*), širina distribucije volumena eritrocita (RDW) i C-reaktivni protein (CRP) za što su potrebna daljnja istraživanja (18 – 20).

Magnetska rezonanca srca (MR) može pomoći u evaluaciji kompleksnih srčanih grešaka: procjena volumena srčanih šupljina, procjena sistoličke i dijastoličke funkcije, procjena stenoze odnosno regurgitacije na nekoj strukturi. S obzirom na to da MR srca dobro evaluira srčano tkivo, prikupljaju se podatci za specifične oblike kardiomiopatija (21).

Kateterizacija srca, iako je izgubila svoje nekadašnje mjesto u dijagnostici srčanih bolesti u djece, i danas je indicirana radi mjerenja tlakova i procjene hemodinamskih parametara kao što su plućne i sistemske vaskularne rezistencije, minutnog volumena i srčanog indeksa.

PRISTUP LIJEČENJU

Pri liječenju kroničnog srčanog zatajivanja u djece s prirođenim srčanim bolestima bitno je prepoznati i liječiti rezidualne defekte kao što su ostatni šantovi, insuficijencije atrioventrikulskih i semilunarnih valvula, rekoarktacije, kolaterale i popraviti ih kirurški i intervencijski koliko god je to bolje moguće (22, 23).

Suportivna terapija je od velikog značaja u liječenju kronične srčane insuficijencije u djece. Potrebno je poboljšati nutritivni status djeteta, pokušati riješiti razne komorbiditete koju ta djeca mogu imati, korigirati eventualnu anemiju i poticati na tjelesnu aktivnost. Te aktivnosti doprinose i boljem uspjehu u farmakološkom liječenju.

Nutritivna podrška: U djece sa srčanom insuficijencijom, zbog povećanih metaboličkih zahtjeva, smanjenog unosa i lošije apsorpcije hrane često se razviju različiti stupnjevi pothranjenosti. Znano je da neadekvatna prehrana dovodi do infekcija, slabijeg cijeljenja rana i lošijeg mišićnog statusa. Optimalna prehrana (dovoljan kalorijski unos i stvaranje energetske rezervi) je bitna da smanje stres i umor u djece sa srčanim zatajivanjem. U dojenačko doba unos kalorija bi trebao dosizati 150 kcal/kg/d što se može postići s dodatkom hiperkalorijskih formula mlijeka, a u starije djece i adolescenata preporučuje se unos 25–30 kcal/kg/d (24, 25).

Potrebno je pratiti i stanje željeza, vitamina D, karnitina kao i u djece s Fontanovom cirkulacijom procijeniti eventualnu protein-loosing enteropatiju i u skladu s tim nadomještati manjak. Preporučuje se visokokalorična i lako probavljiva prehrana. Ponekad je kod teških malnutricija potrebna enteralna ili parenteralna prehrana. Preuhranjenost nije rijetka u djece s prirođenim srčanim greškama. Time je smanjeno podnošenje tjelesnih napora i vježbi i postoji rizik od razvoja hipertenzije ili šećerne bolesti koje će pogoršati stanje zatajenja srca (26).

Tablica 3. Uobičajeni lijekovi kod kroničnog srčanog zatajenja u djece

Lijek	Mehanizam djelovanja	Doza
Inhibitor angiotenzin konvertirajućeg enzima		
Kaptopril	Smanjuje afterloadzaopterećenje, zaustavlja remodeliranje miokarda	0.1 mg/kg/dozi 3 x dnevno (maks. 2 mg/kg/ dozi)
Enalapril		0.1 mg/ kg 2 x dnevno (maks. 0.5 mg/kg/ dan)
Lizinopril		0.05-2 mg /kg 1-2 x dnevno
Inhibitori angiotenzinskih receptora		
Losartan	Smanjuje afterload, inhibira remodeliranje miokarda	0.5- 2 mg /kg dnevno
Beta- blokatori		
Metoprolol	Poboljšava sistoličku funkciju, zaustavlja remodeliranje miokarda	0.1-0.2 mg/kg 2 x dnevno (maks. 1 mg/kg/dozi)
Karvedilol		0.05 - 0.1 mg/ kg 2 x dnevno (maks. 1 mg /kg/dozi)
Diuretici		
Furosemid	Ekskrecija Na, K i Cl, izlučivanje tekućine	0.5-1 mg /kg/ 2-4 x dnevno
Hidroklortiazid		0.5 -1 mg/ kg 2 x dnevno
Spirinolakton	Ekskrecija Na, pošteda K	0.5- 2 mg/ kg 2 x dnevno
Ostalo		
Digoksin	Pozitivno inotropno, negativno kronotropno djelovanje	3-5 mcg /kg 2 x dnevno

Nedostatak željeza i anemija u djece pogoršavaju stanje srčane insuficijencije. Nadomjesna terapija željezom može biti peroralna, ali ponekad mora biti parenteralna, zbog znane slabije apsorpcije željeza u djece (27, 28).

Tjelesna aktivnost: Programi vježbi koji se određuju po svakom pojedinom pacijentu mogu poboljšati funkcionalni status i podnošenje napora. Intenzivne fizičke aktivnosti često su ograničene, kao i natjecateljski sport, ipak blaga do umjerena tjelovježba korisna je za očuvanje mišićne mase i smanjenje umora. Roditelji su skloni prema bolesnom djetetu biti hiperprotektivni i ograničavaju ga u tjelesnim aktivnostima što može dovesti do preuhranjenosti te razvoja dijabetesa tip II. Prilagođenom tjelovježbom ćemo spriječiti takve nepovoljne ishode.

Kardiološka rehabilitacija: S individualiziranom postoperativnom rehabilitacijom valja započeti što je prije moguće tako da se bolesno dijete vrati uobičajenim aktivnostima. Pacijentima s teškim i kompleksnim srčanim greškama, prilagođeni rehabilitacijski programi mogu poboljšati mišićnu, kardiovaskularnu izdržljivost i time kvalitetu života.

FARMAKOLOŠKO LIJEČENJE

Zatajivanje srčane funkcije dovodi do aktivacije kompenzatornih mehanizama koji uključuju adre-

nergični sustav, renin-angiotenzinski sustav i citokinski sustav. Ekscesivna aktivacija th sustava vodi u sekundarno oštećenje ciljnih organa i daljnju progresiju simptoma i razvoja dekompenzirane srčane insuficijencije. Farmakološko liječenje se zasniva na blokadi tih kompenzatornih mehanizama čime bi se spriječio nastanak dekompenzirane srčane insuficijencije, ublažilo simptome, skratilo boravak u bolnici (10, 29).

Farmakološka terapija srčane insuficijencije u djece prvenstveno se bazira na ispitivanjima i preporukama izrađenim za odrasle pacijente i stoga nemamo sigurne znanstvene dokaze da ima istu učinkovitost. Farmakološko liječenje uključuje nekoliko grupa lijekova, prvenstveno bazirano na ispitivanjima učinjenim na adultnoj populaciji. U Tablici 3. navedeni su uobičajeni lijekovi za liječenje kronične srčane insuficijencije u djece.

Inhibitori angiotenzin-konvertirajućeg enzima (ACE-i): ACE inhibitori, poput enalapрила, kaptopрила i lisinopрила smanjuju aktivaciju adrenergičkog sustava i aktivaciju renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava (RAAS) i time smanjujući prvenstveno afterload dovode do ublažavanja simptoma, usporavaju progresiju srčanog oštećenja, skraćuju vrijeme hospitalizacije i poboljšavaju preživljenje. Ovi lijekovi također preveniraju remodeliranje miokarda. Veliki broj kontroliranih randomiziranih studija u djece s prirođenom srča-

nom greškom i srčanim zatajenjem nije učinjeno (10, 30).

Blokatori angiotenzinskih receptora (ARB) kao losartan, valsartan kao i ACE inhibitori prekidaju aktivaciju RAAS i adrenergičku aktivnost. Uglavnom se koriste u djece koja ne podnose terapiju s ACE inhibitorima. Napravljene studije pokazuju poboljšanje ejekcijske frakcije, značajno ublažavanje simptoma i poboljšanje kvalitete života u djece. Studija napravljena u djece sa srčanom insuficijencijom i Duchenne mišićnom distrofijom uspoređivala je učinak valsartana i lisinopрила i kod oba lijeka je primijećeno značajno poboljšanje ejekcijske frakcije, bez značajne razlike među njima (31).

Diuretici: Diuretici, poput furosemda i hidroklor-tiazida, koriste se u slučajevima zastoynih promjena udruženih sa srčanim zatajenjem. Njihovo djelovanje prvenstveno se bazira na smanjivanju sistemske, plućne i venske kongestije. Smanjenje zadržavanja tekućine i ublažavanjem simptoma kongestije poboljšava se kvaliteta života podnošenje napora. Preferiraju se diuretici Henleove petlje (furosemid) koji djeluje inhibicijom reapsorpcije natrija. Ponekad se dodaju i tiazidski diuretici (hidroklortiazid) koji pojačavaju učinak furosemda i i preveniraju nastanak kalciurije i nefrokalcinoze koja može biti udružena s diureticima Henleove petlje (32, 33). Potencijalne komplikacije diuretske terapije u smislu elektrolitskih poremećaja treba pažljivo nadzirati i korigirati, s obzirom na to da je oštećeni miokard u tim slučajevima skloniji poremećajima ritma.

Antagonisti mineralokortikoidnih receptora: Spironolakton, kao antagonist aldosterona, dovodi do ublažavanja fibroze miokarda i smanjuje oslobađanje kateholamina i promovira obrnuto remodeliranje srca. Time poboljšava funkciju srca i smanjuje broj i trajanje hospitalizacija kao i pojavu iznenadne smrti (34). Kod djece s univentrikulskom fiziologijom po tipu desnog ventrikula, fibroza nije glavni uzrok srčanog zatajenja i stoga spironolakton kod ovih pacijenata ne bi bio koristan.

Beta-blokatori: Beta-blokatori djeluju inhibirajući pojačanu adrenergičku aktivnost koja pridonosi progresiji srčane insuficijencije (34). Selektivni beta 1 blokatori potiču dugotrajno pozitivno remodeliranje miokarda smanjenjem utjecaja kate-

holamina koji se kronično otpuštaju u srčanom zatajenju. Beta blokatori također snižavaju srčanu frekvenciju i arterijski tlak i time smanjuju opterećenje miokarda, poboljšavaju koronarnu cirkulaciju i minutni volumen. Korisni su i u prevenciji aritmija. Oni poboljšavaju funkciju miokarda, smanjuju srčanu frekvenciju i poboljšavaju preživljenje kod djece s kroničnom srčanom insuficijencijom (35).

Digoksin se koristi kod djece s teškom srčanom insuficijencijom uglavnom empirijski i bazirano po rezultatima ispitivanja na odraslim pacijentima. Recentne smjernice govore protiv primjene digoksina u djece s asimptomatskom disfunkcijom lijeve klijetke. Ipak smatra se da bi digoksin imao mjesto u liječenju srčanog zatajenja u pacijenata koji ne podnose terapiju ACE inhibitorima i beta blokatorima i u djece s prirođenom srčanom greškom i srčanom insuficijencijom. Digoksin povećava snagu kontrakcije srca inhibicijom natrij-kalij ATPaze, čime povećava intracelularne razine kalcija (10).

Novije terapijske opcije: U posljednje vrijeme odobreni su za liječenje srčane insuficijencije u djece lijekovi kao što su ivabradin i sacubitril/valsartan.

Ivabradin djeluje na srčanu frekvenciju djelovanjem na tkivo sinoatrijskog čvora usporavanjem rada srca (36). Podatci dobiveni iz registra pacijenata s dilatacijskom kardiomiopatijom pokazali su da je ubrzan rad srca povezan s povećanim rizikom od smrti ili potrebe za transplantacijom. Pedijatrijska randomizirana, dvostruko slijepa studija u djece sa stabilnim srčanim zatajenjem pokazala je smanjenje srčane frekvencije i poboljšanje ejekcijske frakcije lijeve klijetke (37). U ispitivanju učinjenom na pacijentima koji boluju od Duchenne mišićne distrofije smanjio je broj neželjenih događaja snižavajući srčanu frekvenciju (38). U drugom malom istraživanju primjena ivabradina ublažila je simptome srčane insuficijencije snižavanjem srčane frekvencije kao direktnom posljedicom prekidanja ili usporavanja atrijske ektopične tahikardije. Odobren je za liječenje u djece starije od 6 mjeseci.

Sacubitril/valsartan je prvi lijek koji efikasno blokira angiotensin II i RAAS aktivnost. Neprilizin je enzim koji pridonosi smanjenju natriuretskog peptida što pomaže u smanjenju utjecaja simpatikusa i nivoa aldosterona u krvi što dalje vodi do

smanjenja arterijskog tlaka i potiče sekreciju natrija. Kombinacija inhibitora neprilizina i ARBa osigurava istovremenu inhibiciju neprilizina i RAAS-a. U velikom istraživanju na odraslima PARADIGM-HF više od 8000 pacijenata je u liječenju srčanog zatajenja dalo prednost sacubitril/valsartanu u odnosu na enalapril (39). Primjena sacubitril/valsartana je i u djece dovela do značajnog smanjenja trajanja hospitalizacija, neželjenih događaja i smrti (40). Na osnovu preliminarnih rezultat međunarodne multicentrične studije PANORAMA-HF kojom su se uspoređivali učinci enalapрила u odnosu na sacubitril/valsartan, lijek je odobren za upotrebu za pedijatrijske pacijente sa simptomatskom srčanom insuficijencijom i disfunkcijom lijeve klijetke u djece starije od 1 godine. Ipak, daljnja evaluacija je potrebna jer definitivni rezultati iste studije ne pokazuju značajnu razliku između liječenja sacubitrilom/valsartanom u odnosu na sam enalapril. Oba lijeka pokazuju dobar učinak na liječenje srčane insuficijencije (41).

U odraslih pacijenata sa srčanom insuficijencijom mnogi novi lijekovi pokazuju ohrabrujuće rezultate i istraživanja za neke od njih su tijekom.

Inhibitori natrij-glukoza kotransportera 2 (SLGT2, engl. sodium-glucose co-transporter 2) (npr. dapagliflozin, canagliflozin) su lijekovi koji su korišteni za kontrolu šećerne bolesti. Na razini bubrega poboljšavaju ekskreciju glukoze i time pomažu boljoj kontroli glikemije. Uočeno je da uporaba tih lijekova kod pacijenata smanjuje broj neželjenih događaja vezanih uz srčanu insuficijenciju neovisno o tome boluju li od dijabetesa ili ne. Velika multicentrična studija u kojem je ispitivana djelotvornost dapagliflozina na 4744 ispitanika potvrdila je to zapažanje i dapagliflozin se koristi u odrasloj populaciji (42). U prvom ispitivanju učinkovitosti SGLT2 inhibitora kod djece sa srčanim zatajivanjem (n38), dapagliflozin je dodan postojećoj terapiji i rezultati nakon 312 dana su pokazali dobru podnošljivost lijeka i značajno poboljšanje ejeckijske frakcije s 32 % na 37 % (43).

Vericiguat, novi lijek odobren za upotrebu u odrasloj populaciji, stimuliranjem guanilat ciklaze te produkcijom dušičnog oksida doprinosi vazodilataciji arteriola, smanjenju oksidativnog i mehaničkog stresa i zaustavljanjem miokardne fibroze. Veliko ispitivanje učinjeno na >5000 pacijenata s EF <45 % je pokazalo značajno smanjenje rizika od

kardiovaskularne smrti i hospitalizacija zbog srčane insuficijencije. U tijeku je kliničko ispitivanje učinkovitosti vericiguata u djece (44).

Omecamtiv Mecarbil je prvi lijek koji djeluje na poboljšanje miokardne funkcije direktno pojačavajući funkciju srčane sarkomere i time poboljšava srčanu kontraktilnost. Veliko istraživanje GALACTIC-HF na preko 8000 ispitanika je pokazalo značajan benefit u svima aspektima, prvenstveno u pacijenata s ejeckijskom frakcijom < 22 % (45). Istraživanja s Omecamtiv Mecarbilom u djece za sada nema.

INTERVENCIJSKA POTPORA

Značajan napredak farmakološke terapije doveo je poboljšanja liječenja i kvalitete života u djece sa srčanim zatajivanjem. Nažalost i dalje postoji nemali broj pacijenata s lošom prognozom i/ili iznenadnom srčanom smrću. Dijelu tih pacijenata je indicirano postavljanje ili implantabilnog kardioverter defibrilatora (ICD), a neki od pacijenata bi imali koristi od srčane resinkronizacijske terapije (CRT).

Na osnovu opservacijskih studija prihvatljive indikacije za implantaciju ICD-a bi bile (46):

- Sekundarna prevencija iznenadne srčane smrti pacijenata s prekinutim srčanim arestom ili u pacijenata s epizodama ventrikulske tahikardije s hemodinamskom nestabilnošću;
- Nerazjašnjena sinkopa u pacijenata s operiranim kompleksom prirođenom srčanom greškom;
- Pacijenti s teškom disfunkcijom lijeve klijetke (ejeckijska frakcija EF < 35 %).

Odrasli pacijenti sa srčanim zatajivanjem u 30 % slučajeva se prezentiraju s blokom lijeve grane (LBBB) i mehaničkom disinkronijom. U disinkroniji lijeve klijetke disfunkcija proizlazi ne samo iz oslabljene kontraktilnosti i poremećaja punjenja nego i iz poremećene sinkroniziranosti rada srčanog mišića. Kasna aktivacija nekih segmenata vodi u sporiji rast tlaka u lijevoj klijetki, odgođene ejeckije, sporije relaksacije i zatim odgođenog punjenja lijeve klijetke. Iako ne postoje klinička istraživanja, opservacijske studije (47) su istaknule dobit CRT-a u pedijatrijskih pacijenata s:

- Dilatativnom kardiomiopatijom (DCM), kompletnim LBBB i teškom disfunkcijom lijeve klijetke (EF <35 %);

- Kompletним atrioventrikulskim blokom u pacijenata s blagom ili umjerenom disfunkcijom lijeve klijetke (EF <55 %);
- Pacijentima s prirođenom srčanom greškom s funkcionalnim ventrikulima, ali teškim smanjenjem EF.

U djece s univentrikulskom fiziologijom postoje tek rijetke studije koje su pokazale poboljšanje srčanog indeksa, povišenje arterijskog tlaka i smanjenje asinkronije nakon CRT-a, ali su podatci preoskudni da bi se dalo opće preporuke (48).

Kod djece s teškim progresivnim srčanim zatajenjem kod kojih su sve farmakološke i nefarmakološke mjere zatajile, u obzir kao most prema transplantaciji ili prema oporavku nam koriste sustavi za cirkulatornu potporu kojom bi se trebala održati dostatna perfuzija u tkivima i ciljnim organima. A akutnim stanjima kardiogenog šoka /srčanog zatajenja sa slabom perfuzijom organa koje ne reagira na farmakološku terapiju pacijenta se mora tretirati izvantjelesnom membranskom oksigenacijom (ECMO) (49).

Transplantacija srca kao terapija za završnu fazu srčane insuficijencije značajno produžava preživljavanje, podnošenje napora i kvalitetu života. Iz godine u godine ishodi u djece kod kojih je transplantirano srce su sve bolji (50).

ZAKLJUČAK

Srčana insuficijencija u djece i dalje ostaje bolest s visokim morbiditetom i mortalitetom i značajnim utjecajem na kvalitetu života djeteta i njegove obitelji. Kronična srčana insuficijencija u djece je kompleksan sindrom, vrlo različite etiologije i kliničke slike i predstavlja kompleksan izazov za pedijatrijske kardiologe i zahtijeva individualizirani terapijski pristup. Za razliku od odraslih pacijenata, u djece srčana insuficijencija nastaje zbog PSG, kardiomiopatije, ali i ostalih raznolikih stanja. Pravovremena dijagnostika i multimodalno liječenje, uključujući farmakološke, nefarmakološke i intervencijske strategije, ključni su za poboljšanje ishoda i kvalitete života djece. Kirurška ili perkutana intervencija u djece s PSG često mogu pomoći u rješavanju volumnog ili tlačnog preopterećenja i normalizaciji veličine i funkcije srčanih šupljina. Kongenitalne kardiomiopatije, metaboličke bolesti, miokarditis su karakterizirane različitom pa-

tofiziologijom i liječenju takvih pacijenata treba pristupati pojedinačno. Neke metaboličke miopatije, npr. Pompeova bolest, mogu biti tretirane ciljano enzimatskom nadomjesnom terapijom. Nove dijagnostičke metode kao što su MR srca, nove ehokardiografske metode, daju nadu da će razumijevanje, dijagnostika i liječenje biti sve uspješnije. Liječenje kronične srčane insuficijencije u djece mora biti usmjereno na smanjivanje simptoma, reduciranje broja hospitalizacija i poboljšanje kvalitete života. U pedijatrijskoj populaciji farmakološki tretman kronične srčane insuficijencije zasniva se na diureticima ACE-i, ARB, antagonistima aldosterona i digoksina. Nažalost u pedijatrijskoj populaciji, iz razumljivih razloga, ima malo randomiziranih, dvostruko slijepih, placebo kontroliranih istraživanja za nove lijekove koji se već koriste u adultnoj medicini. Stoga će i dalje pedijatrijski kardiolozi morati vrlo pažljivo i oprezno u liječenju djece sa srčanom insuficijencijom uvoditi nove lijekove koji su testirani na odraslima. Daljnja istraživanja i napredak u terapijskim opcijama pružaju nadu za još bolje rezultate u budućnosti.

Kratice:

EKG	- Elektrokardiogram
PSG	- Prirođene srčane greške
Echo	- Ehokardiografija
EF	- Ejekcijska frakcija
MR	- Magnetska rezonanca
NT-proBNP	- N-terminalni pro-B-tip natriuretski peptid
RDW	- Širina distribucije volumena eritrocita
ACE-i	- Inhibitori angiotenzin-konvertirajućeg enzima
ECMO	- Izvantjelesna membranska oksigenacija
ARB	- Blokatori angiotenzinskih receptora
RAAS	- Renin-angiotenzin-aldostrenonski sustav
ICD	- Implantabilni kardioverter defibrilator
CRT	- Srčana resinkronizacijska terapija

LITERATURA

1. Rossano JW, Shaddy RE. Heart failure in children: etiology and treatment. *J Pediatr*. 2014;165(2):228-33.
2. Hsu DT, Pearson GD. Heart failure in children: part I: history, etiology, and pathophysiology. *Circ Heart Fail*. 2009; 2(1):63-7.
3. Kaski JP, Limongelli G. Cardiomyopathy in children: importance of aetiology in prognosis. *Lancet*. 2014;383(9916): 781-2.

4. Agrawal A, Janjua D, Zeyada AA, Elsheikh AT. Heart failure in children and adolescents: an update on diagnostic approaches and management. *Pediatr Cardiol.* 2021;42(3):417-32. doi:10.1007/s00246-021-02603-2.
5. Raissadati A, Haukka J, Patila T, Nieminen H, Jokinen E. Chronic disease burden after congenital heart surgery: a 47-year population-based study with 99% follow-up. *J Am Heart Assoc.* 2020;9(3):e01534. doi:10.1161/JAHA.119.015354.
6. Garcia AM, Beatty JT, Nakano SJ. Heart failure in single right ventricle congenital heart disease: physiological and molecular considerations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2020;318(5):H947-H965. doi: 10.1152/ajpheart.00518.2019.
7. Heidenreich PA, Bozkurt B, Aguilar D, et al. 2022 AHA/ACC/HFSA guideline for the medical management of heart failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation.* 2022;145(18):e895-e1032. doi:10.1161/CIR.00000000001063.
8. Ahmed H, VanderPluym C. Medical management of pediatric heart failure. *Curr Opin Cardiol.* 2022;37(5):567-75. doi:10.1097/HCO.0000000000001076.
9. Ross RD. The Ross classification for heart failure in children after 25 years: a review and an age-stratified revision. *Pediatr Cardiol.* 2012;33(8):1295-300. doi:10.1007/s00246-012-0306-8.
10. Castaldi B, Cuppini E, Fumanelli J, et al. Chronic heart failure in children: state of the art and new perspectives. *Int J Cardiol.* 2023;371:50-8. doi:10.1016/j.ijcard.2022.11.030.
11. Amdani S, Conway J, George K, et al. Evaluation and management of chronic heart failure in children and adolescents with congenital heart disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2022;145(12):e646-e668. doi:10.1161/CIR.0000000000001052.
12. Satou GM, Lacro RV, Chung T, Gauvreau K, Jenkins KJ. Heart size on chest X-ray as a predictor of cardiac enlargement by echocardiography in children. *Pediatr Cardiol.* 2001;22(3):218-22.
13. Goldberg SJ, Valdes-Cruz LM, Sahn DJ, Allen HD. Two-dimensional echocardiographic evaluation of dilated cardiomyopathy in children. *Am J Cardiol.* 1983;52(10):1244-8.
14. Masarone D, Valente F, Rubino M, et al. Pediatric heart failure: a practical guide to diagnosis and management. *Pediatr Neonatol.* 2017;58(4):303-12.
15. Eindhoven JA, van den Bosch AE, Jansen PR, Boersma E, Roos-Hesselink JW. The usefulness of brain natriuretic peptide in complex congenital heart disease: a systematic review. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(22):2140-9. doi:10.1016/j.jacc.2012.02.092.
16. Koch A, Zink S, Singer H. B-type natriuretic peptide in paediatric patients with congenital heart disease. *Eur Heart J.* 2006;27(7):861-6. doi:10.1093/eurheartj/ehi773.
17. Januzzi JL Jr, Camacho A, Harrington RA. NT-proBNP as a biomarker in pediatric heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(11):1335-49. doi:10.1016/j.jacc.2020.06.082.
18. Avitabile CM, Leonard MB, Brodsky JL, et al. Usefulness of insulin-like growth factor 1 as a marker of heart failure in children and young adults after the Fontan palliation procedure. *Am J Cardiol.* 2015;115(6):816-20. doi:10.1016/j.amjcard.2014.12.041.
19. Alshawabkeh L, Rajpal S, Landzberg MJ, et al. Relationship of red cell distribution width to adverse outcomes in adults with congenital heart disease (from the Boston Adult Congenital Heart Biobank). *Am J Cardiol.* 2018;122(9):1557-64. doi:10.1016/j.amjcard.2018.07.019.
20. Opatowsky AR, Valente AM, Alshawabkeh L, et al. Prospective cohort study of C-reactive protein as a predictor of clinical events in adults with congenital heart disease: results of the Boston Adult Congenital Heart Disease Biobank. *Eur Heart J.* 2018;39(32):3253-61. doi:10.1093/eurheartj/ehy362.
21. Mitchell FM, Prasad SK, Greil GF, Drivas P, Vassiliou PS, Raphael CE. Cardiovascular magnetic resonance: diagnostic utility and specific considerations in the pediatric population. *World J Clin Pediatr.* 2016;5(1):1-15.
22. Feltes TF, Bacha E, Beekman RH, et al. Indications for cardiac catheterization and intervention in pediatric cardiac disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2011;123(22):2607-52. doi: 10.1161/CIR.0b013e31821b1f10.
23. Brown DW, Tweddell JS, Eghtesady P. Surgical management of congenital heart defects. *Ann Thorac Surg.* 2021;111(4):1164-1178. doi:10.1016/j.athoracsur.2020.08.010.
24. Almond CS, Morales DL, Rossano JW. Mechanical support and transplantation in pediatric heart failure. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2023;165(6):1860-71. doi:10.1016/j.jtcvs.2022.06.010.
25. Hollander SA. Malnutrition in pediatric heart failure. American College of Cardiology. [Internet]. [cited 2023 Jun 16]. Available from: <https://acc.org/latest-in-cardiology/articles/2019/02/04/06/39/malnutrition-in-pediatric-heart-failure>
26. Meltzer JS, Moitra VK. The nutritional and metabolic support of heart failure in the intensive care unit. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2008;11(2):140-6.
27. Barbiero SM, D'Azevedo Sica C, Schuh DS, Cesa CC, de Oliveira Petkowicz R, Pellanda LC. Overweight and obesity in children with congenital heart disease: combination of risks for the future? *BMC Pediatr.* 2014;14:271. doi: 10.1186/1471-2431-14-271.
28. Puri K, Price JF, Spinner JA, et al. Iron deficiency is associated with adverse outcomes in pediatric heart failure. *J Pediatr.* 2020;216:58-66.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2019.08.060.
29. Puri K, Spinner JA, Powers JM, et al. Poor efficacy of oral iron replacement therapy in pediatric patients with heart

- failure. *Cardiol Young*. 2022;32(8):1302-9. doi:10.1017/S1047951121004066.
30. Mann DL, Bristow MR. Mechanisms and models in heart failure: the biomechanical model and beyond. *Circulation*. 2005;111(21):2837-49.
31. Kantor PF, Loughheed J, Dancea A, et al. Presentation, diagnosis, and medical management of heart failure in children: Canadian Cardiovascular Society guidelines. *Can J Cardiol*. 2013;29(12):1535-52.
32. Price JF. Congestive heart failure in children. *Pediatr Rev*. 2019;40(2):60-70.
33. Allen HD, Flanagan KM, Thrush PT, et al. A randomized, double-blind trial of lisinopril and losartan for the treatment of cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy. *PLoS Curr*. 2013 Dec 12; Edition 1. doi:10.1371/currents.md.2cc69a1dae4be7dfe2bcb420024ea865.
34. Mullens W, Damman K, Harjola VP, et al. The use of diuretics in heart failure with congestion: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail*. 2019;21(2):137-55. doi: 10.1002/ehf.1369.
35. Ellison DH, Felker GM. Diuretic treatment in heart failure. *N Engl J Med*. 2017;377(20):1964-75. doi: 10.1056/NEJMr1703100.
36. Amdani S, Marino BS, Rossano J, Lopez R, Schold JD, Tang WHW. Burden of pediatric heart failure in the United States. *J Am Coll Cardiol*. 2022;79(18):1917-28. doi: 10.1016/j.jacc.2022.03.336.
37. Hussey AD, Weintraub RG. Drug treatment of heart failure in children: focus on recent recommendations from the ISHLT guidelines for the management of pediatric heart failure. *Paediatr Drugs*. 2016;18(2):89-99.
38. DiFrancesco D. Funny channels in the control of cardiac rhythm and mode of action of selective blockers. *Pharmacol Res*. 2006;53(5):399-406.
39. Bonnet D, Berger F, Jokinen E, Kantor PF, Daubeney PE. Ivabradine in children with dilated cardiomyopathy and symptomatic chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(10):1262-72.
40. Adorisio R, Calvieri C, Cantarutti N, et al. Heart rate reduction strategy using ivabradine in end-stage Duchenne cardiomyopathy. *Int J Cardiol*. 2019;280:99-103. doi: 10.1016/j.ijcard.2019.01.052.
41. McMurray JJV, Packer M, Desai AS, et al. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl J Med*. 2014;371(11):993-1004.
42. Rossano JW, Shaddy RE. Novel pharmacological approaches in pediatric heart failure. *J Heart Lung Transplant*. 2022;41(2):185-95. doi:10.1016/j.healun.2021.10.005.
43. Shaddy R, Burch M, Kantor PF, et al. Sacubitril/valsartan in pediatric heart failure (PANORAMA-HF): a randomized, multicenter, double-blind trial. *Circulation*. 2024;150(22):Sep 25. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.123.066605.
44. McMurray JJV, Solomon SD, Inzucchi SE, et al. Dapagliflozin in patients with heart failure and reduced ejection fraction. *N Engl J Med*. 2019;381(21):1995-2008.
45. Newland DM, Hong BJ, Albers EL, et al. Safety of dapagliflozin in children with heart failure. *J Heart Lung Transplant*. 2021;40(Suppl):S280.
46. Efficacy, safety, and pharmacokinetics of vericiguat in pediatric participants with heart failure due to left ventricular systolic dysfunction (MK-1242-036) [Internet]. *ClinicalTrials.gov*. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05714085>.
47. Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, et al. Effect of ejection fraction on clinical outcomes in patients treated with omecamtiv mecarbil in GALACTIC-HF. *J Am Coll Cardiol*. 2021;78(1):97-108.
48. Termosesov S, Garipov R, Illich I. ICD therapy in paediatric practice. *Europace*. 2011;13(Suppl 2):i28-29.
49. Cecchin F, Frangini PA, Brown D, et al. Cardiac resynchronization therapy (and multisite pacing) in pediatrics and congenital heart disease: five years' experience in a single institution. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2009;20(1):58-65.
50. Janousek J, Gebauer RA, Abdul-Khaliq H, et al. Cardiac resynchronisation therapy in paediatric and congenital heart disease: differential effects in various anatomical and functional substrates. *Heart*. 2009;95(14):1165-71.
51. Clark JB, Pauliks LB, Myers JL, Undar A. Mechanical circulatory support for end-stage heart failure in repaired and palliated congenital heart disease. *Curr Cardiol Rev*. 2011;7(2):102-9.
52. Martens S, Tie H, Kehl HG, et al. Heart transplantation surgery in children and young adults with congenital heart disease. *J Cardiothorac Surg*. 2023;18:342. <https://doi.org/10.1186/s13019-023-02461-5>.

Adresa za dopisivanje:

Prim. mr. sc. **Neven Čaće**, dr. med.
Klinika za pedijatriju
KBC Rijeka
Vjekoslava Dukića 7, 51000 Rijeka
e-mail: ncace1@gmail.com

S U M M A R Y

Approach to the treatment of chronic heart failure in children

Neven Čaće

Heart failure in children is an important cause of morbidity and mortality in children. In the pediatric population, diverse causes lead to the development of heart failure. The most common causes are congenital heart defects, cardiomyopathies (hereditary or acquired), infectious, metabolic, and genetic disorders. Due to this etiological heterogeneity, the approach to a child with heart failure must be individualized. If possible, it is necessary to treat the underlying disease. In the adult population, well-developed algorithms are used both in the diagnosis and the treatment of heart failure. Research into new drugs in adulthood is constant, while in childhood, primarily due to the heterogeneity of the population and the relatively small number of subjects, it is more challenging. Therefore, we must continue to carefully monitor research on the adult population and hope that further research in children will lead to the use of newer drugs.

Key words: HEART FAILURE; CHILD; THERAPEUTICS

Današnje mogućnosti intervencijskog liječenja srčanih grešaka

Daniel Dilber, Dalibor Šarić, Dorotea Bartoniček, Marina Mihalec, Matija Bakoš, Dorotea Šijak, Viktor Ivanić*

Uvod: Cilj rada je kroz retrospektivnu analizu vlastitih podataka prikazati današnje mogućnosti intervencijskog liječenja u Republici Hrvatskoj, s posebnim osvrtom na pojedine metode.

Ispitanici i metode: Retrospektivno su analizirani podatci o učinjenim kateterizacijama u Klinici za pedijatriju, Zavodu za pedijatrijsku kardiologiju, u periodu od 1. siječnja 2020 godine do 31. prosinca 2024. Učinjena je deskriptivna statistika slučajeva, izdvojen postotak kateterizacija tijekom kojih je učinjena intervencija te posebno izdvojena skupina intervencija koje predstavljaju nove metode uvedene tih godina.

Rezultati: u navedenom periodu, učinjeno je ukupno 866 kateterizacija raspodjelom kako slijedi: 2020. godine 129 kateterizacija, 2021. godine 184 pacijenata, 2022. godine 189 kateterizacija, 2023. godine 215, a 2024. godine 149 kateterizacija. Od ukupnog broja od 866 kateterizacija, učinjeno je 289 intervencija (33.4 %). Neke su intervencijske metode uvedene ranije, poput balonske atrioseptostomije po Rashkindu, koja je u ovom razdoblju učinjena u 50 pacijenata, balonske dilatacije novorođenčake kritične aortne (15 pacijenata) ili kritične pulmonalne stenoze (15 pacijenata). U navedenom periodu učinjeno je 105 biopsija miokarda, poglavito u djece sa stanjem nakon transplanacije srca. Od 2018 godine uvedene su nove metode, etablirane u opisivanom periodu od 2020-2024, izvedene kako slijedi: implantacije Melody valvule u izlazni trakt desne klijetke u 6 pacijenata, umetanje stentova u nativnu koarktaciju, rekoarktaciju, stenozu pulmonalnih grana (20 pacijenata), dilataciju postojećih stentova (13 pacijenata), zatvaranje aorto-pulmonalnih kolaterala u pacijenata sa univentrikulskih srcem, zatvaranje venovenskih kolaterala u pacijenata sa univentrikulskim srcem (8 pacijenata).

Zaključak: današnje mogućnosti intervencijskog liječenja Republici Hrvatskoj na visokoj su razini, uz stalan porast broja zahvata, udjela intervencija u ukupnom broju zahvata te same kompleksnosti intervencijskih zahvata.

Ključne riječi: PRIROĐENE SRČANE GREŠKE, PRIROĐENE; KATETERIZACIJA SRCA; METODE

*Klinika za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb, Zavod za pedijatrijsku kardiologiju, Referentni centar za pedijatrijsku kardiologiju RH

UVOD

Zahvaljujući novim dijagnostičkim metodama, osobito napretku u dijagnostici ultrazvukom, povećava se broj intervencijskih, a sve više smanjuje broj dijagnostičkih kateterizacija srca kod djece (1).

Usporedo s porastom udjela intervencijskih zahvata, pomiče se i dob izvođenja kateterizacijskih procedura, s jasnim trendom izvođenja sve kompleksnijih zahvata u sve nižim dobnim skupinama, s najvećim udjelom u novorođenačkoj i dojenačkoj dobi (1).

Neke su intervencijske metode uvedene prije 1996. godine (balonska atrioseptostomija po Rashkindu, dilatacija pulmonalne stenoze, biopsija miokarda), a ostale su uvedene u našem centru kako slijedi: dilatacija kritične aortne stenoze u novorođenčeta, kao i aortne stenoze u veće djece od 1996. godine, transkatetersko zatvaranje Botallova duktusa od 1997. godine, transkatetersko zatvaranje defekta interatrijskog septuma od 2000. godine i balonska dilatacija nativne koarktacije i rekoarktacije od 2003. godine (2).

Razvoj metoda intervencijske kardiologije događa se zahvaljujući tehnološkom razvoju, uz kreiranje sve sofisticiranijeg medicinskog pribora za liječenje prirođenih srčanih grešaka, no i zahvaljujući sve većem preživljenju djece s najkompleksnijim prirođenim srčanim greškama. Naime, nastaju rezidualne lezije koje zahtijevaju reoperacije, odnosno u današnje vrijeme, nude se mogućnosti reintervencije perkutanim putem, koje manje invazivno, nude hemodinamski boljitak te mogu zamijeniti kiruršku reintervenciju. Kod toga svoje mjesto sve više imaju metode umetanja stenta u nativnu koarktaciju i rekoarktaciju, stenozirane plućne krvne žile, umetanje umjetne valvule na pulmonalnu poziciju perkutanim putem te dilatacija postojećih stentova koje su pacijenti dobili često u neposrednom postoperacijskom periodu za vrijeme novorođenačke ili dojenačke dobi, a koji, zbog rasta pacijenta i zbog razvoja stenoze, trebaju ponovnu intervenciju (3).

Usporedo s razvojem kongenitalne kardijalne kirurgije, usporedo s razvojem intervencijskih metoda, uz respektiranje komplementarnosti metoda, raspravlja se o optimalnim modalitetima liječenja, te ostavlja prostor za traženje i uvođenje

novih metoda intervencijskih liječenja, često navedenih kao hibridne metode liječenja (4, 5).

CILJ

Cilj ovog rada je kroz retrospektivnu analizu vlastitih podataka prikazati današnje mogućnosti intervencijskog liječenja u našem centru, uz poseban osvrt na nove intervencijske metode uvedene u tom razdoblju.

BOLESNICI I METODE

Retrospektivno su analizirani podatci o učinjenim kateterizacijama u Klinici za pedijatriju, Zavodu za pedijatrijsku kardiologiju, u periodu od 1. siječnja 2020. do 31. prosinca 2024. godine. Učinjena je deskriptivna statistika slučajeva, izdvojen postotak kateterizacija tijekom kojih je učinjena intervencija te posebno izdvojena skupina intervencija koje predstavljaju nove metode uvedene tih godina.

REZULTATI

U razdoblju od 1. siječnja 2020. do 31. prosinca 2024. godine učinjeno je ukupno 866 kateterizacija raspodjelom kako slijedi: 2020. godine 129 kateterizacija, 2021 godine 184 kateterizacija, 2022. godine 189 kateterizacija, 2023. godine 215 kateterizacija, 2024. godine 149 kateterizacija. Od ukupnog 866 kateterizacija, učinjeno je 289 intervencija (33.4 %). Od ukupnog broja, 43.4 % kateterizacija je učinjeno do dobi od godinu dana, 56.6 % iza godine dana.

U navedenom periodu učinjeno je 50 balonskih atrioseptostomija po Rashkindu, 15 balonskih dilatacija kritične aortne stenoze novorođenčeta, 15 balonskih dilatacija kritične pulmonalne stenoze, te 21 balonska dilatacija rekoarktacije aorte. Učinjeno je 105 biopsija miokarda, poglavito u djece sa stanjem nakon transplantacije srca.

U istom razdoblju tzv. novim metodama intervencijskog liječenja, odnosno metodama uvedenima od 2018. godine te etabliranim narednih godina, liječeno je ukupno 47 pacijenta: implantacija Melody valvule u izlazni trakt desne klijetke (6 pacijenata), umetanje stentova, bilo u nativnu koarktaciju, rekoarktaciju, ili stenozu pulmonalnih grana (20 pacijenata), dilataciju postojećih stentova (13 pacijenata), zatvaranje aortopulmonalnih kolate-

rala u pacijenata s univentrikulskim srcem ili zatvaranje venovenskih kolaterala u pacijenata s univentrikulskim srcem (8 pacijenata).

RASPRAVA

Intervencijske metode u pedijatrijskoj populaciji širokog su spektra (1, 4, 5). Pojedine metode uvedene su ranije, poput balonske atrioseptostomije po Rashkindu u novorođenčeta ili balonske angioplastike stenotičnih lezija poput aortne ili pulmonalne valvularne stenoze (2, 3). Navedene i dalje imaju svoje mjesto i dalje predstavljaju metodu izbora liječenja. Rashkindova atrioseptostomija, procedura kojom se balonskom atrioseptostomijom omogućava dekompresija desnog atrija, oporavak cirkulacijskog zatajenja u greškama poput pulmonalne atrezije bez ventrikulskog septalnog defekta, trikuspidne atrezije ili nekih drugih složenih srčanih grešaka, ili pak bolje miješanje krvi u greškama poput transpozicije velikih krvnih žila, i dalje je prva i osnovna metoda koja omogućava preživljenje i nastavak liječenja vitalno ugrožena novorođenčeta. Poput ostalih metoda, i sama je doživjela nadopune, ili se izvodi i u drugim indikacijama, te se prohodna interatrijska komunikacija osim balonom može ostvariti perforacijom restriktivne interatrijske pregrade, potom stupnjevitim dilatacijama balonom, te na koncu umetanjem stenta u restriktivnu interatrijsku pregradu koja se javlja u pojedinim pacijenata sa sindromom hipoplastičnog lijevog srca, ponekad u specijaliziranim centrima i intrauterino.

Balonska dilatacija kritične aorte stenoze, jednako kao i dilatacija teške stenoze aorte u novorođenčeta i dojenčeta, predstavljaju i dalje metodu izbora u našem i mnogim drugim centrima, osobito do dobi od godinu dana, respektirajući kriterije o dostatnosti lijeve klijetke za održavanje sistemskog optoka kod odabira pacijenata za dilataciju novorođenačke aortne stenoze, odnosno dostatnosti desne u odabiru pacijenata s pulmonalnom stenozom. Balonska dilatacija aortne stenoze je, unatrag 5 godina u našem centru, nadopunjena metodom kontrolirane i brze stimulaciju srca (tzv „rapid pacing”) perkutanim kateterom u desnoj klijetci, za stabilizaciju balona unutar stenta za vrijeme dilatacije, poglavito u veće djece (1-4).

Dilatacija kritične i/ili teške stenoze plućnog zalijska balonom, i dalje je metoda izbora te se pri-

mjenjuje u našem centru dugi niz godina. Ista je nadopunjena danas, metodama umetanja stenta perkutanim putem, u svrhu poticanja antero-gradnog protoka iz desne klijetke prema često hipoplastičnim granama plućne arterije, a sve u svrhu tzv. centralna rasta plućnih grana kakav se priželjkuje, osobito u dijagnozama gdje se očekuje unifokalizacija nativnih pulmonalnih grana ili kompletna korekcija u greškama poput tetralogije Fallot sa značajno hipoplastičnim pulmonalnih granama. Umetanje stenta u izlazni trakt nalazi svoje mjesto i nakon perforacije membranski atre- tična plućnog zalista, a u svrhu postizanje konti- nuiteta desne klijetke i plućne arterije, jednako kao i umetanje stenta u izlazni trakt desne klijetke kao priprema za napredne metode liječenja pro- blema izlaznog trakta perkutanom implantacijom pulmonalne valvule (Melody valvula) (4, 5).

Balonska dilatacija koarktacije još uvijek ima svoje mjesto za liječenje native koarktacije, poglavito u dobi iza 12 mjeseci. I dalje je metoda izbora za liječenje rekoarktacije u svim dobnim skupinama, no nadopunjena je metodom implantacije stenta koja kao i svaka ima svoje prednosti i nedostatke. Prednosti su zasigurno mogućnost liječenja kompleksnih stenoza rezistentnih na balon, manji postotak aneurizmi nakon procedure, no nedo- statak je jasno strani materijali koji je izložen infla- matornim procesima, uz razvoj neointimalne pro- liferacije, ali i potrebe za dilatacijama koje su po- trebne kako bi pratili rast i razvoj organizma.

Zaključno, liječenje koarktacije aorte u skupni bolesnika ispod 30 kg, a osobito ispod 10 kg, indi- cirano je u liječenju nastale aneurizmatске pro- mjene nakon primarne procedure, u liječenju koarktacije na dugom segmentu, rekurentnih koarktacija s lošim odgovorom na angioplastiku te u tijeku liječenja kada bi rizik reoperacije (poput operacije koarktacije neposredno nakon operacije po Norwoodu ili operacije kompleksne transpozi- cij velikih krvnih žila) bio prevelik (6-9).

Metoda liječenja stenoza pulmonalnih grana ume- tanjem stenta, kakvu smo ranije prikazali, često je spasonosna, kada rezidualna stenoza nakon ope- racije onemogućava hemodinamski boljitak i opo- ravak djeteta nakon operacije. Došla je kao logič- na, nakon što se balonskom dilatacijom ne uspije postići učinak, a cilj joj je smanjiti stenozu i neutra- lizirati gradijent, često pod cijenu ponavljanih di-

latacija tijekom rasta djeteta. Ima svoje mjesto i u liječenju nativnih lezija, poglavito u dijagnozama s primarno hipoplastičnim granama (10).

Konačno, u ovom radu prikazali smo i naša prva iskustva s implantacijom Melody zalistka na pulmonalnu poziciju u pacijenata s višekratno operiranim lezijama desne klijetke. U tu široku skupinu bolesnika spadaju bolesnici s desnostranom insuficijencijom bilo zbog stenoze izlaznog trakta desne klijetke, bilo zbog insuficijencije. Većina njih je najčešće operirana u dojenačkoj dobi poput pacijenata s tetralogijom Fallot ili nekom drugom složenom srčanom greškom (zajednički arterijski trunkus, teška aortna stenoza ili insuficijencija operirana po Rossu, kompleksne transpozicije velikih krvnih žila s Rastelli procedurom) kod čega je u tijeku primarne operacije postavljen provodnik u izlazni trakt desne klijetke, koji sada zbog razvoja stenoze, što zbog rasta, što zbog imunološki uvjetovanih reakcija, treba zamijeniti (11, 12, 13, 15).

Stalan napredak kakav se bilježi u ovoj propulzivnoj struci omogućava nam usporedbu različitih metoda, traženje optimalne za svakog bolesnika, ponekad prelazeći ranije postavljene granice. Isto nas poziva da svaku metodu, bilo intervencijsku, bilo kiruršku, respektiramo kao komplementarnu, a za svakog pojedinog pacijenta pokušamo naći optimalnu (2-4).

LITERATURA

1. Feltes TF, Bacha E, Beekman RH, et al. Indications for cardiac catheterization and intervention in pediatric cardiac disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2011;123(22):2607-52. doi: 10.1161/CIR.0b013e31821b1f10.
2. Malčić I, Kniewald H, Šarić D, et al. Razvoj interventne dijagnostike u Referentnom centru za pedijatrijsku kardiologiju RH – retrospektivna studija 1996–2009. *Liječ Vjesn*. 2010;132(7-8):241-9.
3. Dilber D, Šarić D, Bartoniček D, et al. Prikaz novih metoda intervencijskog liječenja u Referentnom centru za pedijatrijsku kardiologiju Republike Hrvatske. *Liječ Vjesn*. 2024;146(1-2):39-48. doi:10.26800/LV-146-1-2-6.
4. Schranz D, Bauer A, Reich B, et al. Fifteen-year single center experience with the “Giessen Hybrid” approach for hypoplastic left heart and variants: current strategies and outcomes. *Pediatr Cardiol*. 2015;36(2):365-73. doi: 10.1007/s00246-014-1015-2.
5. Kawasaki T, Qureshi SA. The future of paediatric heart interventions: where will we be in 2030? *Curr Cardiol Rep*. 2020;22(9):158. doi:10.1007/s11886-020-01404-z.
6. Golden AB, Hellenbrand WE. Coarctation of the aorta: stenting in children and adults. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2007;69(2):289-99. doi:10.1002/ccd.21009.
7. Gendera K, Ewert P, Tanase D, et al. Balloon-expandable stents for recoarctation of the aorta in small children: two-center experience. *Int J Cardiol*. 2018;250:34-9. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.02.054.
8. Quandt D, Ramchandani B, Penford G, et al. Initial experience with the Cook Formula balloon-expandable stent in congenital heart disease. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2015;86(2):259-66. doi:10.1002/ccd.25543.
9. Malčić I, Kniewald H, Šarić D, et al. Koarktacija aorte u djece u 10-godišnjoj kliničkoj epidemiološkoj studiji: dijagnostičko i terapijsko razmatranje. *Liječ Vjesn*. 2015;137(1-2):9-17.
10. Ooi YK, Kim SIH, Gillespie SE, Kim DW, Vincent RN, Petit CJ. Premounted stents for branch pulmonary artery stenosis in children: a short-term solution. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2018;92(7):1315-22. doi:10.1002/ccd.27800.
11. Bonhoeffer P, Boudjemline Y, Saliba Z, et al. Percutaneous replacement of pulmonary valve in a right-ventricle to pulmonary-artery prosthetic conduit with valve dysfunction. *Lancet*. 2000;356(9239):1403-5. doi:10.1016/S0140-6736(00)02844-0.
12. Eicken A, Hess J. Percutaneous pulmonary valve implantation: the Munich experience. *Interv Cardiol (Lond) [Internet]*. 2012;4(2):193-201. Available from: <https://www.openaccessjournals.com/articles/percutaneous-pulmonary-valve-implantation-the-munich-experience.pdf>
13. Lange R, Weipert J, Homann M, et al. Performance of allografts and xenografts for right ventricular outflow tract reconstruction. *Ann Thorac Surg*. 2001;71(1):365-7. doi: 10.1016/s0003-4975(01)02552-8.
14. Dilber D, Hörer J, Malčić I, Hess J, Ewert P, Eicken A. Percutaneous pulmonary valve implantation and surgical valve replacement in patients with right ventricular outflow tract dysfunction—a complementary treatment concept. *Int J Cardiol*. 2013;169(1):3-5. doi:10.1016/j.ijcard.2013.08.122.
15. Friedman JK, Bridges ND, Mayer JE Jr, Lock JE. Prevalence and risk factors for aortopulmonary collateral vessels after Fontan and bidirectional Glenn procedures. *J Am Coll Cardiol*. 1993;22(1):207-15. doi:10.1016/0735-1097(93)90836-p.

Adresa za dopisivanje:

izv. prof. dr. sc. **Daniel Dilber**, dr. med.
 Klinika za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb,
 Zavod za pedijatrijsku kardiologiju,
 Referentni centar za pedijatrijsku kardiologiju RH
 Kišpatićeva 12, 10 000 Zagreb
 e-mail: dilber_daniel@yahoo.com

SUMMARY

Interventional methods of treatment of pediatric cardiac defects

Daniel Dilber, Dalibor Šarić, Dorotea Bartoniček, Marina Mihalec, Matija Bakoš, Dorotea Šijak, Viktor Ivanić

Objective: This paper aims to present the current possibilities of interventional treatment in the Republic of Croatia through a retrospective analysis of our data, with a special focus on specific methods.

Patients and Methods: A retrospective analysis was conducted on data regarding cardiac catheterizations performed at the Pediatric Clinic, Department of Pediatric Cardiology, from January 1, 2020, to December 31, 2024. Descriptive statistics of the cases were performed, specifically focusing on the percentage of catheterizations involving interventions and interventions representing new methods introduced during this period.

Results: During the specified period, a total of 866 catheterizations were performed, distributed as follows: 129 in 2020, 184 in 2021, 189 in 2022, 215 in 2023, and 149 in 2024. Of the total 866 catheterizations, 289 (33.4 %) involved interventions. Some interventional methods had been introduced earlier, such as Rashkind balloon atrial septostomy, performed in 50 patients during this period, balloon dilatation for neonatal aortic (15 patients), and pulmonary stenosis (15 patients), among others. During this period, 105 cardiac biopsies were done, mostly in cardiac post-transplant patients. New methods introduced and established during this time included Melody valve implantation in the right ventricular outflow tract (6 patients), stent placement in native coarctation, recoarctation, and pulmonary branch stenosis (20 patients), dilation of existing stents (13 patients), closure of aortopulmonary collaterals in patients with univentricular hearts, and closure of venovenous collaterals in univentricular heart patients (8 patients).

Conclusion: The current possibilities for interventional treatment in the Republic of Croatia are high, with a steady increase in the number of procedures, the proportion of interventions within the total number of procedures, and the complexity of interventional procedures. A heart murmur is an auscultatory phenomenon caused by turbulent blood flow through cardiac structures or blood vessels. Although many murmurs are not pathological, their occurrence can indicate various cardiac conditions, including valvular diseases, congenital heart defects, and cardiomyopathies. This article reviews the etiology of heart murmurs, diagnostic methods for their detection and evaluation, and clinical significance for treatment planning.

Key words: HEART DEFECTS, CONGENITAL; CARDIAC CATHETERIZATION; METHODS

Nove smjernice o liječenju aortopatija dječje dobi

Dalibor Šarić*

Aortopatije predstavljaju raznoliku skupinu patoloških stanja koja zahvaćaju aortu i njene ogranke s povećanim rizikom nastanka aneurizmi, disekcije ili rupture aorte. U djece, za razliku od odraslih, aortopatije su obično uzrokovane genetskim uzrocima ili prirođenim grješkama srca. Iako je disekcija aorte rijetka u djece to je životno ugrožavajuće stanje. Rana dijagnoza, redovito praćenje i pravovremeno liječenje su ključni za optimalno liječenje i sprječavanje lošeg ishoda. Ovaj pregledni članak daje uvid u etiologiju aortopatija grudne aorte u djece i čimbenike koje treba uzeti u obzir pri odluci za medikamentno i elektivno kirurško liječenje, poput dimenzije aorte, genetskog subtipa i dodatne rizične čimbenike kao fenotipske oznake ili obiteljska anamneza.

Ključne riječi: BOLESTI AORTE; ČIMBENICI RIZIKA; GENETIKA; KIRURŠKI ZAHVATI, OPERATIVNI

UVOD

Naziv aortopatija označava slabost stijenke aorte koja može dovesti do proširenja, aneurizme, disekcije ili rupture aorte ili njenih ogranaka. Obično se dijagnosticira u dječjoj dobi i primarno zahvaća uzlaznu aortu ali može zahvatiti i ostale dijelove aorte i periferno žilje. Patogeneza aortopatija uključuje genetska stanja kao sistemne bolesti vezivnog tkiva i poremećaj kontrakcije glatkih mišića te prirođene greške srca kao bikuspidna aortna valvula. Katastrofične komplikacije aortopatije su disekcija i ruptura aorte. Preventivnim mjerama i pravodobnim kirurškim zahvatom mogu se izbjeći ova životno ugrožavajuća stanja. Američko udruženje za bolesti srca (AHA) i Europsko kardiološko društvo su 2024. godine objavili smjernice za liječenje aortopatija u djece temeljene na dostupnim dokazima i usuglašenom mišljenju eksperata (1, 2). To su prve sveobuhvatne znanstvene objave koje sadrže usuglašeno mišljenje eksperata o brojnim aspektima aortopatija dječje dobi. U njima su sadržane smjernice za dijagnozu aortopatija, praćenje aorte tehnikama slikovnog prikaza, tjelesnu aktivnost djece s aortopatijom, prijedlozi za medikamentozno liječenje te indikacije za elektivno

kirurško liječenje. Svrha ovih objava je poboljšanje i ujednačavanje liječenja djece s aortopatijom u cijelom svijetu. Ipak ove smjernice daju samo okvir za postupanje i promoviraju individualizirani pristup temeljen na osobnim i obiteljskim posebnostima svakog pacijenta.

U ovom članku ćemo se osvrnuti na najpoznatija stanja koja uzrokuju aortopatije u djece i ukazati na novoprihvaćene stavove navedene u spomenutim znanstvenim objavama u pogledu stupnjevanja proširenja aorte te indikacija za medikamentozno i kirurško liječenje.

Dio tablica preuzetih iz izvornog materijala je dijelom skraćen i modificiran. Za detaljan prikaz upućujemo na izvore navedene u referencama.

ETIOLOGIJA AORTOPATIJA

Nasljedne bolesti grudne aorte (obiteljske aortopatije) su skupina aortopatija koja ima genetsku osnovu. Mogu biti dio sindroma kao Marfanov sindrom ili se javiti izolirano bez jasnih fenotipskih

* Poliklinika Arista, Donje Svetice 46 c, 10000 Zagreb

Tablica 1. Nasljedne bolesti s aortopatijom i njihova obilježja

Bolest	Gen/nasljeđivanje	Funkcija gena	Osobitosti u kliničkom nalazu i tijeku bolesti	Kardiovaskularne manifestacije u djece
Sindrom multisistemne disfunkcije glatkih mišića	ACTA 2 (R179) /AD	Kontrakcija glatkih mišića	Kongenit. midrijaza Moyamoya. iris floccule	Dilatacija aorte (ascendens>korijen)
Nesindromska	ACTA 2 /AD	Kontrakcija glatkih mišića	Livedo reticularis, iris flocculi, BAV, PDA, rana koronarna bolest, CVI	Dilatacija aorte (ascendens>korijen) Disekcija Ao tip A i B,
Marfanov sindrom	FBN1 /AD	Vanstanični matriks	Ektopija leće, visok rast	Prolaps AV valvula± Dilatacija aorte (korijen> Ao ascend.
Žilni Ehlers-Danlos sdr	COL3A1 /AD	Vanstanični matriks	Modrice po koži, tanka koža, duboko usađene oči, tanak nos, spavanje s otvorenim očima, perforacije unutarnjih organa	Disekcija vertebralne i karotidne arterije ili druge periferne arterije Ruptura aorte
Cutis laxa tip IB	EFEMP2 /AR	Vanstanični matrik	Cutix laxa, ekstremno tortuozitet arterija, emfizem, arahnodaktilija	Difuzne dilatacije, tortuozitet i multiple stenoze arterija
Meester-Loeys sindrom	BGN /X vezano	Vanstanični matriks	Hipertelorizam, hipertrofija gingiva, kamptodaktilija dilatacija moždanih klijetki	Dilatacija i disekcija aorte
Sindrom FLNA deficijencije	FLNA /X vezano	Kontrakcija glatkih mišića	Periventrikularna nodularna heterotopija, epi, zaostatak u mentalnom razvoju	Dilatacija aorte (ascendens>korijen), PDA, VSD, ASD
Aortopatija vezana za mutaciju LOX	LOX /AD	Vanstanični matriks	Pektus, skolioza, BAV, tortuozitet arterija	cerebralne žile i abdominalna aorta
Aortopatija vezana za mutaciju MAT2A	MAT2A/AD	metabolizam glatkih mišića	Kasniji početak bolesti, nizak rizik disekcije	Dilatacija aorte
Aortopatija vezana za mutaciju MYLK	MYLK /AD	Kontrakcija glatkih mišića	Kasniji početak bolesti, disekcija aorte uz gotovo normalan promjer	Nisu opisane
Aortopatija vezana za mutaciju PRKG1	PRKG1 /AD	Kontrakcija glatkih mišića	Disekcija aorte u ranoj dobi	Disekcija grudne ili trbušne aorte
Sphrintzen-Goldberg sindrom	SKI/AD	TGF-β signal	Kraniosinostoza, pektus, hipertelorizam, zaostatak u mentalnom razvoju	Dilatacija aorte, prolaps mitralne valvule, ASD
Loeys Dietz sindrom tip 3	SMAD3 /AD	TGF-β signal	Hipertelorizam, rascijep uvule, različita obilježja sistemske bolesti vezivnog tkiva	Dilatacija grudne i trbušne aorte, cerebralne žile
Loeys Dietz sindrom tip 2 i tip 5	TGFB2 (tip 2) TGFB3 (tip5) /AD	TGF-β signal	Hipertelorizam, rascijep uvule, tortuozitet arterija različita obilježja sistemske bolesti vezivnog tkiva	Dilatacija grudne i trbušne aorte, cerebralne žile
Loeys Dietz sindrom tip 1 i tip 2	TGFB1 (tip 1) TGFB2 (tip2) /AD	TGF-β signal	Hipertelorizam, rascijep uvule, kraniosinostoza, tortuozitet arterija različita obilježja sistemske bolesti vezivnog tkiva	Aneurizme i disekcija aorte opisane u ranoj dobi, prolaps mitralne valvule, zahvaća cijelo arterijsko stablo

obilježja poznatih sindroma kao aortopatija uzrokovana varijantama mutacije ACTA 2 (nesindromske aortopatije). Molekularna osnova mnogih obiteljskih aortopatija, osobito sindromskih je poznata. Poznato je petnaestak gena čije mutacije dovode do aortopatije. Ti geni kodiraju proteine uključene u građu i funkciju izvanstanične tvari veziva stijenke aorte (FBN1, MFAP5), kontrakciju i

metabolizam glatkih mišića žila (ACTA 2, MYH11, MYLK, PRKG1, MAT2A) ili prenošenje signala transformirajućeg čimbenika rasta (TGFB1, TGFB2, TGFB3, SMAD3). U tablici 1 naveden je popis nasljednih bolesti i uzročnih gena čije mutacije dovode do aortopatije, način nasljeđivanja, fenotipska obilježja bolesnika i tijek bolesti. Iako postoji povezanost genotipa i fenotipa, klinička

Tablica 2. Promjene na organima i organskim sustavima koje se mogu naći u djece s aortopatijom

Glava	Kraniosinostoze, mikrogratija, retrogratija, visoko nepce, rascjep nepca /uvula bifida
Oči	Enoftalmus, miopija, ektopija leće, glaukom, midrijaza, iris flokuli, katarakta, sivkaste sklere
Kardiovaskularni sustav	Aneurizma /disekcija aorte, tortuozitet arterija, aneurizme perifernih arterija, prolaps mitralne ili trikuspidne valvule, prirođene grješke srca
Prsni koš / kralježnica	Deformitet sternuma, pneumotoraks skolioza, kifoza, nestabilnost vratne kralježnice, ektazija dure
Trbuh	Hernije (abdominalna, hijatalna, ingvinalna), ezofagitis, upalne bolesti crijeva rupture šupljih organa (crijeva, uterus, mokraćni mjehur)
Mišićni sustav	Rupture mišića ili tetiva
Koža	Modrice, strije, atrofični ožiljci, livedo retikularis, prozirna koža
Ekstremiteti	Arahnodaktilija, kontrakture, ravna stopala, deformiteti stopala
Zglobovi	Labavi zglobovi, kontrakture, displazije, luksacije

slika brojnih sindromskih aortopatija se preklapa. Fenotipska heterogenost, dobno ovisna klinička obilježja, česta pojava sporadičnih slučajeva i široka diferencijalna dijagnoza otežavaju dijagnostiku sindromskih aortopatija. Pravovremena dijagnoza nasljednih aortopatija nam omogućava da znamo očekivani prirodni tijek bolesti i pridružene rizike te da pravodobno započnemo liječenje prilagođeno pacijentu što u konačnici spašava život.

Marfanov sindrom (MFS) je najčešća nasljedna sistemna bolest vezivnog tkiva praćena aortopatijom. Pojavnost MFS je 1 na 5000 živorođenih. Pogađa pogađa srce, krvne žile, oči i koštanozglobni sustav a zahvaća i druge organske sustave: kožu, pluća i središnji živčani sustav. Kardiovaskularne manifestacije uključuju progresivnu dilataciju korijena aorte, prolaps AV valvula s regurgitacijom i kardiomiopatiju neovisnu o stupnju volumnog opterećenja. Klinička slika MFS je varijabilna unutar iste obitelji a brojna obilježja su dobno ovisna. Klasični oblik MFS se očituje u dječjoj ili ranoj odrasloj dobi a neonatalni oblik ima visoku smrtnost. Postoje i oligosimptomatski oblici s izoliranom ektopijom leće ili promjenama skeleta. Prosječna dob postavljanja dijagnoze je 19 godina. Uzrok MFS je mutacija gena za protein fibrilin-1 (FBN1) koji tvori mikrofibrile međustanične tvari vezivnog tkiva. Defektan FBN1 povećava aktivnost brojnih citokina koji reguliraju brojne funkcije stanica. Rezultat mutacije FBN1 gena je slabost vezivnog tkiva i pojačan longitudinalni rast dugih kostiju. Poznato je više od 1500 mutacija FBN1 gena. MFS se nasljeđuje autosomno dominantno, 75 % bolesnika je naslijedilo MFS a 25 % bolesnika ima novu mutaciju. U oko 10 % osoba s MFS nije moguće dokazati mutaciju FBN1 gena.

Loeys-Dietz sindrom (LDS) obuhvata više autosomno dominantno nasljednih bolesti sa zahvaćenošću krvožilnog, kraniofacijalnog, lokomotornog, kožnog i imunološkog sustava. Uzrokovan je heterozigotnom mutacijom jednog od 6 gena koji kodiraju izravne efekte transformirajućeg faktora rasta tip beta (TGFβ) : TGFBR1, TGFBR2, SMAD3, TGFB2, TGFB3 i SMAD2. Stoga postoji 6 tipova LDS koji se razlikuju po kliničkoj slici i tijeku bolesti. Fenotip osoba s LDS je sličan fenotipu drugih nasljednih bolesti koje zahvaćaju aortu a osobito MFS. No u LDS se češće nego u drugim bolestima javlja kraniosinostoza, rascjep uvule ili nepca (ne rascjep usnice), tamnije sklere i diskoloracija zubi. LDS odlikuje sklonost nastanku aneurizme korijena aorte ali i ostalih dijelova aorte i njenih ogranaka. Uz to je obično izražen tortuozitet arterija vrata i glave. Disekcija aorte u LDS nastaje u dječjoj dobi i pri manjem promjeru aorte nego u MFS, osobito u varijantama TGFBR1 i TGFBR2 dok rijetko ili nikada u varijantama TGFB2, TGFB3 ili SMAD 3. Osobe s LDS su sklone alergijskim i autoimunim bolestima kao ekcem, anafilaksija, astma, te autoimunim bolestima probavnog sustava. Oko 25 % osoba s LDS je bolest naslijedilo dok oko 75 % ima novu mutaciju. Neliječeni bolesnici s LDS prosječno žive 26,1 godinu

Vaskularni EHLERS-Danlos sindrom (vEDS) je rijetka autosomno dominantno nasljedna aortopatija uzrokovana mutacijom gena COL3A1 koja kodira sintezu pro-alfa 1 lanca kolagena tip III. Pojavnost vEDS u populaciji je 1:50000-150000, s time da je 50 % osoba bolest naslijedilo a ostalo su nove mutacije. Djeca obično imaju normalan izgled ili vrlo diskretnu dismorfiju (uzak nos, tanke usnice) a dominiraju promjene na koži u vidu tanke

Tablica 3. Visoko rizične čimbenici za disekciju aorte u pojedinim aoropatijama

Patološko stanje s aortopatijom	Rizični čimbenici
Sva	Anamneza o disekciji aorte u člana obitelji, osobito ako je promjer aorte bio <5 cm Anamneza o članu obitelji s disekcijom aorte ili operacijom aorte u dječjoj dobi Disfunkcija valvule aorte umjerenog ili težeg stupnja Širenje promjera aorte ≥ 0.8 cm/godinu prije 2. godine života, ≥ 0.5 cm/godinu nakon 2. godine života ili >0.3 cm/godinu dvije godine uzastopno kada se završi rast Trudnoća
Marfanov sindrom (MFS)	Marfanov sindrom s ranim početkom (neonatalni oblik), često ali ne uvijek uzrokovan mutacijom FBN1 gena u egzonomima 23–32 Indeks tortuoziteta vertebralne arterije >50 (kalkulator dostupan na https://clarityregistry.com/calculators/risk-calculators/vti-calculator .)
Loeys-Dietz Sindrom (LDS)	Mutacije gena TGFBR1 i TGFBR2 uzrokuju raniji početak i težu kliničku sliku u odnosu na mutacije drugih gena koji uzrokuju LDS; Mutacija gena TGFBR2 R528 ima najgoru prognozu Osobe s mutacijom gena TGFBR1 ili TGFBR2 imaju već rizik od disekcije aorte ako imaju : kraniosinostozu, rasijep nepca, uvulu bifidu, tortuozitet arterija ili/i prozirnu kožu Indeks tortuoziteta vertebralne arterije >50 Ženski spol s mutacijom TGFBR2 i niskim rastom
Vaskularni Ehlers-Danlos Sindrom (vEDS) - Ranije zvan EDS tip IV	Uzrokovan mutacijom gena COL3A1 koji uzrokuje zamjenu glicina u molekuli kolagena drugom aminokiselinom Česti hematomi ili ozlijede Osobna ili obiteljska anamneza o spontanim puknućima unutarnjih organa (crijeva, jetra, slezena, mokraćni mjehur ili maternica)
ACTA2 variante	Sindrom disfunkcije glatkih mišića zbog mutacije gena ACTA2 R179 ali i drugih patoloških misens mutacija. Otvoren arterijski duktus, Moyamoya-like cerebrovaskularna bolest
PRKG1 variant	Zahvaćene osobe imaju značajan rizik disekcije aorte već od adolescencije čak i bez značajne dilatacije aorte
EFEMP2 variant	Cutis laxa tip IB je rijetka autosomno recesivna bolest koja se očituje već u dojenačkoj dobi s teškom dilatacijom, elongacijom, tortuozitetom i stenozama aorte te sistemnih i plućnih arterija s opstrukcijom dišnih puteva

i prozirne kože, modrica i laceracija. Životno ugrožavajuće komplikacije bolesti kao disekcija ili ruptura aorte, pneumotoraks, rupture unutarnjih organa obično nastaju u životnoj dobi ≥ 20 godina.

Heterozigotne ACTA 2 mutacije su odgovorne za nastanak 10–14 % nesindromskih obiteljskih aneurizmi grudne aorte. Gen ACTA 2 kodira alfa aktin, glavnu komponentu kontraktilnog aparata glatkih mišića krvnih žila. Nosioći mutacije mogu imati čitav spektar bolesti krvnih žila od ranog nastanka koronarne bolesti, Moyamoya bolesti s ishemičnim inzultima mozga, plućne hipertenzije do aneurizme aorte. Fenotipska obilježja uključuju *iris flocculi*, *livedo reticularis*, prirođenu midrijazu, malrotaciju crijeva i hipotoničan mjehur. Najmalignije su mutacije R258 i R179 u kojih disekcija aorte može nastati u dobi < 20 godina.

Heterozigotna patogena MYLK (laki lanac miozina) mutacija uzrokuje disekciju aorte odraslih uz relativno blago proširenje uzlazne aorte ali u djece disekcija nije opisana.

Heterozigotne patogene mutacije PRKG1 (protein kinaza G1) su rijedak ali maligni uzrok obiteljskih aortopatija jer mogu dovesti do disekcije aorte već u doba adolescencije i bez značajnijeg proširenja aorte. Stoga rano treba razmotriti kirurško liječenje čak i kada nema proširenja aorte.

Heterozigotne patogene mutacije LOX (lizil oksidaza) uzrokuje obiteljsku aneurizmu grudne aorte. Pacijenti s tom mutacijom imaju marfanoidan fenotip (deformacije skeleta i zglobova, strije, ektaziju dure) ali ne zadovoljavaju kriterije za MFS. Dilatacija aorte nastaje u dječjoj dobi ili kasnije i može se širiti do luka aorte.

Heterozigotna patogena MYH11 (miozin teški lanac 11) varijante uzrokuju fuziformne aneurizme korijena i grudne aorte ali disekcija aorte nije opisana u dječjoj dobi. U djece je uz ove mutacije opisano postojanje arterijskog duktusa i cerebrovaskularna bolest.

Heterozigotne patogene mutacije FLNA (filamin A) gena se nasljeđuju X vezano dominantno. Veći-

na bolesnika su ženskog spola jer muški embriji (hemizigoti) odumru. Pacijenti imaju periventrularnu nodalnu heterotopiju (poremećaj migracije neurona) s epilepsijom i zaostajanjem u mentalnom razvoju. Od kardiovaskularnih manifestacija oboljeli imaju progresivnu dilataciju korijena i uzlazne aorte, a mogu imati bikuspidnu aortnu valvulu (BAV), displaziju zalistaka, otvoren arterijski duktus i plućnu hipertenziju. Od ne kardijalnih manifestacija oboljeli imaju tanku i mekanu kožu, labave zglobove i opstruktivnu bolest pluća koja je glavni uzrok smrti u ranoj dječjoj dobi.

Autosomno recesivna *Cutis laxa tip 1b* (EFEMP2) je vrlo rijetka bolest koju odlikuje rastezljiva koža koja visi u labavim naborima (cutis laxa), difuzna zahvaćenost arterija (aneurizme, tortuoziteti i stenoze), labavi zglobovi, hernije i arahnodaktilija. Perinatalna smrtnost je visoka zbog zatajenja disanja uzrokovanog kompresijom traheobronhalnog stabla od strane aneurizmatički promijenjenih krvnih žila.

DRUGI UZROCI AORTOPATIJA U DJECE

Proširenje uzlazne aorte u djece vidamo uz bikuspidnu aortnu valvulu (BAV), konotrunkalne prirođene greške srca, potpuni prirođeni blok srca, arterijsku hipertenziju i kronične bolesti bubrega. Također, proširenje aorte prati neka genetska oboljenja kao DiGeorgeov sindrom, sindrom Alagille, PHACE sindrom, Noonanov i Turnerov sindrom te neurofibromatozu.

Bikuspidnu aortnu valvulu (BAV) ima 1-2 % osoba u općoj populaciji. U pogledu morfologije, hemodinamskog učinka i kliničke slike, BAV je heterogena skupina bolesti. Dilataciju aorte postupno razvija 80 % pacijenata s BAV s 5-9 puta većim rizikom za disekciju aorte u odrasloj dobi. Disekcija aorte nije opisana u djece s BAV. Obrazac širenja aorte ovisi o morfologiji i funkciji aortne valvule. Proširenje zahvaća dio uzlazne aorte, korijen aorte ili čitavu uzlaznu aortu do luka aorte. Dilatacija srednjeg dijela uzlazne aorte češća je uz stenozu a dilatacija korijena uz insuficijenciju valvule aorte. BAV se nasljeđuje autosomno dominantno s prodornošću od 9-30 %. Specifičan genski lokus i njegov abnormalan produkt odgovoran za nastanak BAV još nije definiran. Mutacije ACTA2,

NOTCH1 i SMAD 6 gena su nađene u nekim bolesnika s BAV.

EVALUACIJA DJECE S AORTOPATIJOM

Evaluaciju djece sa sumnjom na aortopatiju počinjemo detaljnim kliničkim pregledom i obiteljskom anamnezom. Klinički pregled mora biti pažljiv i sveobuhvatan s naglasom na kožu, lokomotorni sustav, oči, srce i neurološki sustav. Posebno treba tražiti fenotipska obilježja koja upućuju na sindromsko oboljenje. Ta obilježja mogu biti dobno ovisna te slabo izražena u mladoj životnoj dobi što ukazuje na potrebu za serijskim praćenjem pacijenata.

Ektopija leće je visoko specifična za Marfanov sindrom dok djeca s drugim nasljednim aortopatijama mogu imati fenotipska obilježja koja upućuju na specifične genetske poremećaje kao iris flokuli, midrijaza, Moyamoya bolest (ACTA2) ili kraniosinostozu ili rascjep uvule (LDS). Obiteljska anamneza mora obuhvatiti najmanje tri generacije. Naglasak u anamnezi treba biti na kardiovaskularnim zbivanjima kao iznenadna smrt članova obitelji, kardiokirurškim zahvatima, postojanju dilatacije aorte ili bolesti zalistaka kao i osobitim fenotipskim obilježjima. Negativna obiteljska anamneza kao i odsustvo tipičnih fenotipskim obilježja ne isključuju genetsku aortopatiju.

U kliničkom pregledu i obiteljskoj anamnezi treba obratiti pozornost na traženje rizičnih čimbenika koji djecu s aortopatijom čine podložnom za nastanak disekcije aorte (Tablica 3.).

SLIKOVNE METODE PRAĆENJA AORTOPATIJA

Transtorakalna ehokardiografija je osnovna tehnika slikovnog prikaza za dijagnozu i praćenje djece s aortopatijom. Pri pregledu treba slijediti smjernice i standarde izvođenja ehokardiografskog pregleda propisane od ovlaštenih stručnih udruženja (3, 4).

Maksimalni promjer uzlazne aorte se mjeri na više razina (anulus, korijen, sinotubularni spoj i uzlazna aorta) u sistoli, mjereći udaljenost unutarnjih rubova aorte. U djece mlađe od 16 godina dimenzije aorte se izražavaju kao z vrijednost što označava

Tablica 4. Okvirna učestalost slikovnog prikaza aorte

	Stupanj dilatacije korijena ili uzlazne aorte			
	Nema	Blagi	Umjereni	Teški
Dob<16 god (z vrijednost)	<2	≥2<3.5	≥3.5<5	≥5
Dob≥16 god, cm	<3.5	≥3.5<4	≥4<4.5	≥4.5
Klasičan MFS				
Marfanov sindrom (MFS) s ranim početkom	Pregled slikovnom tehnikom treba učiniti svaka 1-3 mjeseca a ako bolest ne napreduje pregled može biti svakih 6 mjeseci			
TGFB1 ili TGFB2				
TGFB2, TGFB3, SMAD2				
SMAD3				
Vaskularni EDS				
EDS tip I (klasični)	*			
ACTA2 (ne R179)				
ACTA2 R179				
PRKG1	#	#	#	#
MYH11, LOX, MYLK				
FLNA				
Vjerojatno nasljedna aortopatija s negativnim genetskim testom				
TGA, TAC, TOF, PA-VSD, Fontan	ovisno	o	tipu srčane	greške

*ako inicijalni nalaz uredan, daljnje praćenje nije potrebno

#Visoki rizik disekcije počevši u dobi od oko 17 godina čak i bez dilatacije aorte

Legenda boje	
	Svakih 12-24 mjeseca
	Svakih 12-18 mj
	Svakih 6-12mj
	Svakih 3-6 mjeseci

broj standardnih devijacija od srednje očekivane (normalne) vrijednosti za određenu površinu tijela. Važno je u serijskom praćenju djece s aortopatijom uvijek koristiti iste nomograme. U SAD-u se najčešće rabe nomogrami koje su izradili Boston Children's Hospital i The Pediatric Heart Network (5, 6). Učestalost pregleda (Tablica 4.) ovisi o stupnju proširenja aorte i etiologiji aortopatije. Prisutnost visokorizičnih čimbenika (Tablica 3.) zahtijeva češće preglede.

Magnetna rezonancija srca (MR) i magnetna rezonancija s angiografijom (MRA) daje kvalitetan prikaz grudne aorte i perifernih žila s dodatnim informacijama o funkciji srca i tortuozitetu arterija ali zahtijeva duboku sedaciju ili opću anesteziju manje djece. Odličan prikaz aorte daje i kompjuterizirana tomografija uz izloženost ionizirajućem zračenju.

Kompjuterizirana tomografija s angiografijom (CTA) je metoda izbora slikovnog prikaza aorte kada postoje zapreke za opću anesteziju ili u svrhu hitne evaluacije disekcije aorte. Kvantifikacija tortuoziteta arterija, kao indeks tortuoziteta aorte ili vertebralne arterije (VTI), se može odrediti iz MRA ili CTA prikaza aorte s ograncima što ima prognostičku vrijednost (7, 8). Indeks tortuoziteta vertebralne arterije (VTI) >50 se povezuje s ranijom potrebom za kirurškim zahvatom, disekcijom aorte i većim rizikom iznenadne smrti u pacijenata s MFS ili LDS uzrokovanim mutacijama TGFB1 ili TGFB2. Indeks tortuoziteta aorte ≥1.95 u osoba s MFS ukazuje na rizik od ranije disekcije aorte. Neke genetske varijante nose rizik patoloških promjena perifernih arterija te osim aortografije, zahtijevaju slikovni prikaz perifernog žilja.

Tablica 5. Indikacije za genetsko testiranje djece s proširenjem aorte ovisno o prisustvu ili odsustvu bikuspidne valvule aorte

Dilatacija aorte bez bikuspidne aortne valvule uz prisustvo jednog ili više čimbenika:	Dilatacija aorte +bikuspidna Ao. Valvula uz prisustvo jednog ili više čimbenika:
Pozitivna osobna ili obiteljska anamneza na disekciju aorte ili spontanu perforaciju crijeva	Pozitivna osobna ili obiteljska anamneza na disekciju aorte ili spontanu perforaciju crijeva
Z vrijednost korjena ili uzlazne aorte $\geq 2 < 3$ bez jasnog uzroka* + 1 ili više fenotipskih oznaka iz tablice 2	Multiple fenotipske oznake koje upućuju na moguću nasljednu aortopatiju (tablica 2)
Z vrijednost korjena ili uzlazne aorte ≥ 3 ili dimenzije ≥ 4 cm bez jasnog uzroka*	Bliski srodnik s poznatom nasljednom aortopatijom
Korijen ili uzlazna aorta ≥ 5 cm	Z vrijednost uzlazne aorte ≥ 5.0
Multiple fenotipske oznake koje upućuju na moguću nasljednu aortopatiju (tablica 2)	Z vrijednost korjena aorte ≥ 3.5
Bliski srodnik s poznatom nasljednom aortopatijom	Korijen aorte ili uzlazna aorta ≥ 4 cm
	Z-vrijednost korjena > z-vrijednost ao ascendens
	Obiteljska pojava BAV, koarktacije arte ili SHLS

* – proširenje uzlazne aorte (Z-vrijednost ≥ 2) se viđa uz prirođeni potpuni AV blok srca, kroničnu bubrežnu bolest, arterijsku hipertenziju i neke prirođene greške srca (tetralogija Fallot, zajednički arterijski trunkus, transpozicija velikih krvnih žila, nakon Fontanove operacije)

GENETSKO TESTIRANJE

Shvaćanjem važnosti specifične genetske dijagnoze za ocjenu rizika od disekcije aorte te za odluku o medikamentoznom i kirurškom liječenju, genetsko testiranje aortopatija je postalo neizbježno. Treba ga učiniti osobama u kojih postoji razumna vjerojatnost postojanja nasljedne aortopatije ili kada rezultat testiranja može promijeniti terapijski pristup. Bikuspidna aortna valvula (BAV) obično uzrokuje izvjestan stupanj proširenja uzlazne aorte. Neke nasljedne aortopatije se javljaju udruženo s BAV te BAV ne isključuje nasljednu aortopatiju. U tablici 5 su zasebno navedene indikacije za genetsko testiranje aortopatija koje imaju i koje nemaju pridruženu BAV.

U genetskoj analizi aortopatija se rabe multigen-ski paneli koji otkrivaju mutacije do sada poznatih gena koje dovode do aortopatije a popis ispitivanih gena ovisi o laboratoriju.

Ako genetskom analizom nađemo patogenu mutaciju, analizu treba učiniti svim članovima obitelji koji po obrascu nasljeđivanja mogu imati istu bolest. Općenito, patogene ili moguće patogene mutacije se nađu u 8-36 % ispitivanih osoba s većom učestalošću u djece sa sindromskim manifestacijama (9-12). Ako je u osoba s dilatacijom aorte ili BAV rezultat genetskog testiranja negativan, slikovni prikaz aorte treba učiniti i članovima uže obitelji.

MEDIKAMENTOZNO LIJEČENJE AORTOPATIJA

Dokazi koji opravdavaju primjenu medikamenata u liječenju aortopatija djece proizilaze iz randomiziranih kliničkih studija primjene blokatora beta

adrenergičnih receptora (BB) i blokatora angiotenzinskih receptora (ARB) u pacijenata s Marfanovim sindromom (13-21). S obzirom na sličnost histoloških promjena i funkcionalnih svojstava svih aortopatija bez obzira na uzrok, iskustva u liječenja pacijenata s MFS su ekstrapolirana na sve aortopatije (22-23). Rezultati najveće randomizirane kliničke studije su objavljeni 2014. godine, a obuhvatili su 608 pacijenata s MFS životne dobi od 6 mjeseci do 25 godina. Studija je pokazala da su i losartan i atenolol jednako učinkoviti i dobro podnošljivi u usporeivanju dilatacije korijena aorte, a učinak je bio bolji u mlađih pacijenata.

Cilj medikamentoznog liječenja je usporiti širenje dilatacije aorte kako bi se kardiokirurški zahvat odgodio u što kasniju životnu dob. Stoga liječenje treba započeti što ranije.

Analiza rezultata kliničkih istraživanja je pokazala kako ARB mogu u pacijenata koji su na terapiji blokatorima beta receptora dodatno usporiti širenje aorte. Stoga je pacijentima s visokim rizikom od disekcije aorte opravdano uvesti dvojnju terapiju, ukoliko ju podnose. Pri tome treba biti pažljiv, prvo optimizirati dozu prvog lijeka, a potom uvesti drugi lijek postupno povećavajući dozu do terapijske razine, nastojeći izbjeći nuspojave lijekova. Zbog kardioselektivnosti, dugog djelovanja i rijetkih nuspojava od BB najčešće se primjenjuje atenolol. Važan dio liječenja aortopatija je rigorozna kontrola arterijske hipertenzije i doziranje tjelesnih opterećenja. Lijekove koji stimuliraju srce i krvožilni sustav i uzrokuju povišenje frekvencije srca i krvnog tlaka kao dekongestive, psihostimulante i triptane (lijekovi za migrenu) treba izbjegavati. Također se smatra da antimikrobni lijekovi iz

Tablica 6. Preporuke za medikamentoznu terapiju aortopatija ovisno o uzroku i stupnju proširenja korijena ili uzlazne aorte (modificirano prema referenci 1).

	Stupanj dilatacije korijena ili uzlazne aorte			
	Nema	Blagi	Umjereni	Teški
Dob<16 god (z vrijednost)	<2	≥2<3.5	≥3.5<5	≥5
Dob≥16 god, cm	<3.5	≥3.5<4	≥4<4.5	≥4.5
Marfanov sindrom	*			
TGFBR1 ili TGFBR2	*			
TGFB2, TGFB3, SMAD3 ili SMAD2	*			
EDS tip I (klasični)				
ACTA2 (ne R179)				
ACTA2 R179				
PRKG1				
MYH11, LOX, MYLK				
Vjerojatno nasljedna aortopatija s negativnim genetskim testom		*		
BAV koja nije udružena s nasljednom bolešću veziva				
TGA, TAC, TOF, PA-VSD, Fontan				#

TGA-transpozicija velikih krvnih žila, TAC- zajednički arterijski trunkus, TOF- tetralogija Fallot, PA- pulmonalna atrezija, VSD- defekt interventrikulske prebrade, BAV-bikuspidna aortna valvula

*- razmotri uvođenje jednog lijeka

#- ako širenje aorte progredira uvedi th

Legenda boja

Bez medikamentozne terapije

Jedan medikament

Barem jedan medikament, razmotri dvojnu terapiju

Dvojna terapija

Tablica 7. Lijekovi za liječenje aortopatija

Lijek	doziranje	Indikacija/opaska
<i>B blokatori 3. generacije</i> Carvedilol	početi s 0.08-0.15 mg/kg/dan u dvije doze, titrirati do 1.0 mg/kg/dan (max 50 mg/dan)	aortopatije s disfunkcijom klijeti
Labetalol	1-3 mg/kg/dan u dvije doze, maksimalna doza je 10-12 mg/kg/dan (max 1200mg/dan)	aortopatije s disfunkcijom klijeti
<i>B blokatori 2. generacije</i> Atenolol	početi s 1-2 mg/kg/dan u jednoj ili dvije doze, titrirati do 4 mg/kg/dan (max 250mg/dan)	sve aortopatije
Metoprolol	početi s 1 mg/kg/dan ili 25 mg/dan, titrirati do max. 200 mg/dan Metoprolol sukcinat- jedna dnevna doza Metoprolol tartrat- u dvije doze	sve aortopatije
<i>B blokatori 1. Generacije</i> Propranolol	Početi s 0.25-0.5 mg/kg po dozi, svakih 8 sati. Titrirati do max doze 4 mg/kg/dan	Sve aortopatije/ obično se daje mlađoj djeci (≤ 4 godine), a kasnije atenolol ili metoprolol. Slaba selektivnost, može izazvati bronhospazam
<i>Blokatori receptora angitenzina</i> Lorsartan	Dob ≥ 6 mjeseci: početi s 0.3-0.5 mg/kg/dan u jednoj dozi, postupno povišivati do max 1-1.4 mg/kg/dan (max 100mg/dan)	Sve aortopatije/ kontrolirati : kreatinin, K, ALT, AST i ALT, Hgb
Irbesartan	Dob 6 mj.-6 godina: početi s 3 mg/kg jedanput na dan, povišivati kroz 3 tjedna do 5-7 mg/kg/dan Dob >6 god.-12 godina: početi s 75 mg/dan te povišivati kroz 3 tjedna do 150 mg/dan ≥12 godina: početi s 150 mg/dan, povišivati kroz 3 tjedna do 300mg/dan	Sve aortopatije/ može se dnevna doza podijeliti u dvije doze Povremeno kontrolni lab:kreatinin, K, AST, ALT, Hgb

Tablica 8. Kirurški prag za operaciju djece s aortopatijom temeljen na suglasju stručnjaka i dosadašnjim iskustvima. Vrijeme operacije se može prilagoditi individualnim zahtjevima pacijenta..

Bolest ili mutacija gena	Uobičajan kirurški prag	Ako postoje visoko rizični čimbenici (tabela 3)
	promjer korjena ili uzlazne aorte u cm	
Marfan sdr (MFS)	5.0 cm Ako je pacijent viši ili niži od prosjeka, u dobi ≥ 16 god. može se kao prag rabiti omjer površina presjeka korjena aorte/visina (cm^2/m) ≥ 10	$\geq 4.5\text{cm}$ Kod MFS s ranim početkom i teškom dilatacijom aorte (ako je anulus aorte ≥ 2): <2 god: 3.3-3.4 cm ≥ 2 god < 5 god: 3.7-3,8 cm ≥ 5 god: 4 cm
TGFB1 ili TGFB2	≥ 4.5	Kada je anulus aorte $\geq 2\text{cm}$: <2 god: 3.3-3.4 cm ≥ 2 god < 5 god: 3.7-3,8 cm ≥ 5 god: 4 cm
TGFB2	≥ 4.5	≥ 4.5
TGFB3	≥ 5.0	≥ 5.0
SMAD3, SMAD2	≥ 4.5	≥ 4.5
ACTA 2	≥ 4.5 Ako postoji Moyamoya-like bolest, zbog većeg operativnog rizika prag može biti viši	≥ 4.2
PRKG1	Operacija se preporuča kod bilo kojeg stupnja dilatacije (Z vrijednost ≥ 2) a pacijent je u dobi ≥ 17 godina	
Žilni Ehler-Danlos	≥ 4.5	≥ 4.5
Bikuspidna valvula aorte (BAV)	≥ 5.5	≥ 5.0 (ako je širenje aorte $> 3\text{mm}/\text{godinu}$ ili je korijen aorte širi od uzlazne aorte)
Dilatacija aorte bez drugih dijagnoza	≥ 5.0	≥ 4.5
TGA, TAC, TOF, PA+VSD, Fontan	$\geq 5.5-6.0$	$\geq 5.5-6.0$
Nakon op po Rossu	$\geq 5.0-6.0$	$\geq 5.0-6.0$

skupine fluorokinolona mogu povećati rizik od disekcije aorte te ih treba izbjegavati.

Preporuke za medikamentozno liječenje aortopatija, ovisno o uzroku i stupnju dilatacije korijena i uzlazne aorte sadržani su u tablici 6. Lijekovi koji se koriste u liječenju aortopatija navedeni su u tablici 7. U prisustvu visoko-rizičnih čimbenika (Tablica 3.) ili umjerene progresije širenja aorte (≥ 0.5 < 0.8 cm/god. prve dvije godine života ili > 0.3 < 0.5 cm/god. nakon druge godine života) treba razmotriti agresivnije liječenje. U periodu ubrzanog rasta (pubertet) potrebno je pažljivo praćenje pacijenata s obzirom na mogući ubrzan rast dimenzija aorte. Uz to je važno pratiti i funkciju aortne valvule i lijeve klijetke srca.

PROFILAKTIČKI KARDIO-KIRURŠKI ZAHVAT KOD DILATACIJE GRUDNE AORTE

Disekcija i ruptura aorte je u dječjoj dobi rijetka i najčešće katastrofična. Obično je riječ o disekciji uzlazne aorte (tip A) kojoj godinama, ali ne uvijek

(npr. u mutaciji PRKG1 gena), prethodi postupno širenje korijena ili uzlazne aorte. Kao i u odraslih, dimenzija aorte je najbolji prediktor disekcije tip A u djece. Rizik disekcije ovisi o osnovnoj bolesti koja je uzrokovala aortopatiju, specifičnoj genskoj mutaciji, fenotipskim obilježjima djeteta, obiteljskoj anamnezi, stupnju tortuoziteta arterija i brzini širenja promjera aorte (Tablica 3.). Stoga svaki pacijent zahtijeva individualan pristup s obzirom na liječenje.

Određivanje promjera aorte izraženog z vrijednošću je dobro mjerilo za praćenje pacijenata i odluku o medikamentoznoj terapiji, dok se apsolutna vrijednost promjera aorte rabi za odluku o kirurškom liječenju (Tablica 8.). Budući da se komercijalno dostupni provodnici ne mogu rabiti dok promjer prstena aorte ne bude oko 20 mm, promjer anulusa aorte i maksimalni promjer aorte se rabe u odluci o kirurškom liječenju.

Posebnu pozornost treba posvetiti mutacijama gena za koje je znano da u mladoj dobi mogu uzrokovati disekciju uzlazne aorte uz blago proširenje

ili bez proširenja aorte. Poznato je da disekcija u pacijenata s patogenom mutacijom PRKG1 može nastati i uz normalnu dimenziju aorte te pažljivo treba razmotriti indikaciju za elektivnim kardio-kirurškim zahvatom.

Pacijenti koji imaju nasljednu aortopatiju bez jasno definiranog genskog uzroka trebaju biti tretirani u skladu s obiteljskom anamnezom o tijeku bolesti u članova obitelji. Ako je obiteljska anamneza negativna ili nepoznata, pacijente treba tretirati kao klasičan MFS osim u prisustvu visoko rizičnih čimbenika.

Elektivna zamjena korijena i uzlazne aorte spašava živote pacijenata s nasljednom aortopatijom.

Kirurške tehnike zamjene korijena aorte se dijele na one u kojima se pri operaciji čuva pacijentova funkcionalna aortna valvula (engl. *valve-sparing root replacement*) ili se zamijeni cijeli korijen aorte s aortnom valvulom (engl. *valve – replacing*). U praksi postoje dvije kirurške tehnike zamjene korijena aorte s očuvanjem aorte valvule: reimplantacijska tehnika po Davidu ili tehnika po Yacoubu s remodeliranjem valvule. Obje operacije zahtijevaju dostatno velik prsten aorte. Očuvanjem aortne valvule izbjegavamo ugradnju mehaničke aortne valvule i potrebu za doživotnom antikoagulacijskom terapijom te smanjujemo rizik od tromboembolijskih i septičkih komplikacija (endokarditis).

U novije vrijeme pojavile su se kirurške alternative zamjeni korijena aorte u vidu raznih tehnika vanjske potpore korijena aorte ali su iskustva u djece ograničena.

U posebno agresivnim oblicima bolesti (kao genetske varijante ACTA2 R179 ili TGFB2 R 528) pri elektivnom kardiokirurškom zahvatu nekada je potrebno zamijeniti čitavu uzlaznu aortu s lukom aorte.

ZAKLJUČAK

Nasljedne bolesti koje mijenjaju strukturu i funkciju vezivnog tkiva ili glatkih mišića krvnih žila su najčešći uzroci aortopatija u djece. Učinjen je veliki napredak u pogledu otkrivanja molekularne osnove brojnih aortopatija ali još uvijek postoje brojne nepoznanice u pogledu etiologije i optimalnog terapijskog pristupa aortopatijama. Usuglašen stav eksperata o pristupu aortopatijama dječje dobi,

temeljen na do sada poznatim dokazima, pridonijet će poboljšanju i ujednačavanju skrbi o djeci s aortopatijom. Dane smjernice u pogledu praćenja, medikamentoznog i elektivnog kirurškog zahvata su okvirne i promoviraju individualiziran pristup djetetu s aortopatijom.

LITERATURA

1. Morris SA, Flyer JN, Yetman AT, et al. Cardiovascular management of aortopathy in children: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2024;150(10):e228–e254. doi: 10.1161/CIR.0000000000001265.
2. Muiño-Mosquera L, Cervi E, De Groote K, et al. Management of aortic disease in children with FBN1-related Marfan syndrome. *Eur Heart J*. 2024;45(39):4156–4169. doi: 10.1093/eurheartj/ehae526.
3. Lai WW, Geva T, Shirali GS, et al. Guidelines and standards for performance of a pediatric echocardiogram. *J Am Soc Echocardiogr*. 2006;19(12):1413–1430. doi: 10.1016/j.echo.2006.09.001.
4. Lopez L, Colan SD, Frommelt PC, et al. Recommendations for quantification methods during the performance of a pediatric echocardiogram. *J Am Soc Echocardiogr*. 2010;23(5):465–495; quiz 576. doi: 10.1016/j.echo.2010.03.019.
5. Boston Children's Hospital Heart Center. Boston Z-score calculator. Available from: <https://zscore.chboston.org>.
6. Lopez L, Frommelt PC, Colan SD, et al. Pediatric Heart Network echocardiographic Z scores: comparison with other published models. *J Am Soc Echocardiogr*. 2021;34(3):185–192. doi: 10.1016/j.echo.2020.09.019.
7. Morris SA, Orbach DB, Geva T, Singh MN, Gauvreau K, Lacro RV. Increased vertebral artery tortuosity index is associated with adverse outcomes in children and young adults with connective tissue disorders. *Circulation*. 2011;124(3):388–396. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.990549.
8. Franken R, el Morabit A, de Waard V, et al. Increased aortic tortuosity indicates a more severe aortic phenotype in adults with Marfan syndrome. *Int J Cardiol*. 2015;194:7–12. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.05.072.
9. Hicks KL, Byers PH, Quiroga E, Pepin MG, Shalhoub S. Testing patterns for genetically triggered aortic and arterial aneurysms and dissections at an academic center. *J Vasc Surg*. 2018;68(3):701–711. doi: 10.1016/j.jvs.2017.12.023.
10. Overwater E, Marsili L, Baars MJH, et al. Results of next-generation sequencing gene panel diagnostics including copy-number variation analysis in 810 patients suspected of heritable thoracic aortic disorders. *Hum Mutat*. 2018;39(9):1173–1192. doi: 10.1002/humu.23565.
11. Proost D, Vandeweyer G, Meester JAN, et al. Performant mutation identification using targeted next-generation

- sequencing of 14 thoracic aortic aneurysm genes. Hum Mutat. 2015;36(9):808–814. doi: 10.1002/humu.22802.
12. Wooderchak-Donahue W, VanSant-Webb C, Tvrdik T, et al. Clinical utility of a next-generation sequencing panel assay for Marfan and Marfan-like syndromes featuring aortopathy. Am J Med Genet A. 2015;167(8):1747–1757. doi: 10.1002/ajmg.a.37085.
 13. Shores J, Berger KR, Murphy EA, Pyeritz RE. Progression of aortic dilatation and the benefit of long-term β -adrenergic blockade in Marfan's syndrome. N Engl J Med. 1994;330(19):1335–1341. doi: 10.1056/NEJM199405123301902.
 14. Groenink M, den Hartog AW, Franken R, et al. Losartan reduces aortic dilatation rate in adults with Marfan syndrome: a randomized controlled trial. Eur Heart J. 2013;34(45):3491–3500. doi: 10.1093/eurheartj/ehv334.
 15. Lacro RV, Dietz HC, Sleeper LA, et al. Atenolol versus losartan in children and young adults with Marfan's syndrome. N Engl J Med. 2014;371(22):2061–2071. doi: 10.1056/NEJMoa1404731.
 16. Milleron O, Arnoult F, Ropers J, et al. Marfan Sartan: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Eur Heart J. 2015;36(32):2160–2166. doi: 10.1093/eurheartj/ehv151.
 17. Sandor GGS, Alghamdi MH, Raffin LA, et al. A randomized, double-blind pilot study to assess the effects of losartan vs. atenolol on the biophysical properties of the aorta in patients with Marfan and Loeys-Dietz syndromes. Int J Cardiol. 2015;179:470–475. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.11.082.
 18. Forteza A, Evangelista A, Sanchez V, et al. Efficacy of losartan vs. atenolol for the prevention of aortic dilation in Marfan syndrome: a randomized clinical trial. Eur Heart J. 2016;37(12):978–985. doi: 10.1093/eurheartj/ehv575.
 19. Muiño-Mosquera L, De Nobele S, Devos D, Campens L, De Paepe A, De Backer J. Efficacy of losartan as add-on therapy to prevent aortic growth and ventricular dysfunction in patients with Marfan syndrome: a randomized, double-blind clinical trial. Acta Cardiol. 2017;72(5):1–9. doi: 10.1080/00015385.2017.1314134.
 20. Mullen M, Jin XY, Child A, et al. Irbesartan in Marfan syndrome (AIMS): a double-blind, placebo-controlled randomized trial. Lancet. 2020;394(10216):2263–2270. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32518-8.
 21. Pitcher A, Spata E, Emberson J, et al. Angiotensin receptor blockers and β -blockers in Marfan syndrome: an individual patient data meta-analysis of randomized trials. Lancet. 2022;400(10353):822–831. doi: 10.1016/S0140-6736(22)01534-3.
 22. Ong K-T, Perdu J, De Backer J, et al. Effect of celiprolol on prevention of cardiovascular events in vascular Ehlers-Danlos syndrome: a prospective randomized, open, blind-ended-endpoints trial. Lancet. 2010;376(9751):1476–1484. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60960-9.
 23. Flyer JN, Sleeper LA, Colan SD, Singh MN, Lacro RV. Effect of losartan or atenolol on children and young adults with bicuspid aortic valve and dilated aorta. Am J Cardiol. 2021;144:111–117. doi: 10.1016/j.amjcard.2020.12.050.

Adresa za dopisivanje:

Prim. Dalibor Šarić, dr. med.
Poliklinika Arista
Donje Svetice 46 c, 10000 Zagreb
e-mail: saric.dalibor@gmail.com

SUMMARY

The new guidelines for the treatment and management of aortopathy in children

Dalibor Šarić

Aortopathies represent a diverse group of pathological conditions affecting the aorta and its branches with an increased risk for aneurysm formation, dissection, or rupture. In children, in contrast with adults, aortopathies are usually caused by genetic causes or congenital heart defects. Although aortic dissection is rare in children, it is a life-threatening event. Early diagnosis, regular surveillance, and timely treatment are crucial for optimal management and prevention of adverse outcomes. This review provides an overview of the etiology of thoracic aortopathies in pediatric patients and offers parameters to consider for pharmacologic therapy and elective aortic surgery in children, taking into account factors such as aortic size, genetic subtypes and additional high-risk factors as phenotypic features or family history.

Key words: AORTIC DISEASES; RISK FACTORS; GENETICS; SURGICAL PROCEDURES, OPERATIVE

Bol u prsnom košu

Aleksandar Ovuka*

Bol u prsnom košu je čest razlog dolaska djece i adolescenata liječniku. Iako su najčešće bolovi benigne etiologije predstavljaju značajni razlog izostanka iz škole i izbjegavanja sportskih aktivnosti. Osim toga uzrokuju zabrinutosti djece i roditelja. Etiološki gledano najčešći razlog bolova su muskuloskeletalne, psihogene i idiopatske naravi dok do 6 % djece ima neku ozbiljnu ili potencijalno životno ugrožavajuću bolest poput mioperikarditisa, hipertrofične kardiomiopatije, disekcije aorte, spontanog pneumotoraksa, pneumonije i sl. Razlikovanje benignih stanja od potencijalno ozbiljnih bolesti se bazira na detaljno uzetoj anamnezi i fizikalnom pregledu. Od dijagnostičkih pretraga su od koristi elektrokardiogram, pregledna snimka grudnih organa, ehokardiografija, krvna slika, biljezi upale, specifični srčani enzimi poput troponina T ili troponina I. U ovom radu su prikazani najčešći razlozi bolova u prsnom košu i alarmirajući znakovi potencijalno životno ugrožavajućih stanja ne bi li na najlakši mogući način otkrili pacijente čiji bolovi u podlozi imaju potencijalno ozbiljne bolesti te ih pravovremeno liječili.

Ključne riječi: BOL U PRSIŠTU; PERIKARDITIS; KARDIOMIOPATIJE; PNEUMOTORAKS

UVOD

Bol u prsnom košu je sedmi po učestalosti razlog posjete djece i adolescenta liječniku te izvor zabrinutosti i straha roditelja s obzirom na činjenicu da ljudi uglavnom povezuju bol u predjelu prsišta sa srčanim oboljenjem (1-4). Točna prevalencija nije poznata, ali se procjenjuje da oko 0,5 - 1 % posjeta hitnim pedijatrijskim službama čine djeca i adolescenti s bolovima u prsnom košu. Osim toga, to je jedan od bitnih razloga izostajanja iz škole i izbjegavanja sportskih aktivnosti. Na svu sreću uglavnom se radi o benignoj etiologiji bolova koja se javlja podjednako često u onih mlađih i onih starijih od 12 godina. Čak 55 % djece s bolovima u prsnom košu se javlja u pedijatrijske kardiološke ambulante, njih 30 % u opće pedijatrijske ambulante te 10 % slučajeva adultnim kardiolozima što je u suprotnosti s činjenicom da su bolovi u prsištu kardiogene etiologije maksimalno javljaju u do 2 % slučajeva (5). Detaljno uzeta anamneza i fizikalni pregled najčešće mogu pomoći u probiru one djece koja imaju potencijalno životno ugrožavaju-

ću bolest ili stanje, te zahtijevaju žurnu dodatnu dijagnostičku obradu ili neku intervenciju (6).

ETIOLOGIJA

Etiološki se razlikuju dvije osnovne grupe bolesnika, one s traumatskim bolovima i skupinu djece s netraumatskim bolovima. Kao što je već u uvodu rečeno, u čak 94 - 99 % slučajeva se radi benignim stanjima, a u 1 - 6 % slučajeva o potencijalno životno ugrožavajućim stanjima kao što je prikazano u tablicama 1. i 2. Najčešći razlozi bolova u prsnom košu su muskuloskeletalni i čine oko 30 % bolova. Najčešće se radi o stanjima poput kosto-hondritisa, oštre probadajuće Texidorove boli te rjeđeg „slipping rib syndrom“. Značajnu skupinu čine idiopatski bolovi za koju se nikada ne otkrije etiologija (5). Psihogeni bolovi čine do 30 % do čak 50 % slučajeva i često su udruženi s bolovima u

*Klinika za pedijatriju, KBC Rijeka, Vjekoslava Dukića 7, 51000 Rijeka

Tablica 1. Životno ugrožavajuća stanja

Srčane bolesti
• Hipertrofična kardiomiopatija
• Aortna stenoza
• Koarktacija aorte
• Abnormalnosti kornoranih arterioja
• Perikarditis
• Miokarditis
• Disekcija aneurizme aorte
• Ruptura aneurizme Valsalvinih sinusa
• Tahiaritmije
Strana tijela u dišnom sustavu
Pneumotoraks
Plućna embolija
Akutni prsni sindrom u djece s anemijom srpastih eritrocita
Novotvorenina
Netraumatska ruptura jednjaka

Tablica 2. Česti razlozi bolova u prsnom košu

Muskuloskeletalni
Psihosomatski
Respiratorni
Gastrointestinalni
Ginekomastija, razvoj dojki
Neurološki
Idiopatski

drugim dijelovima tijela poput glavobolje, bolova u trbuhu te s napadajima panike i hiperventilacije (7, 8). Nažalost danas sve više djece dolaze u ambulate i hitne bolničke službe radi psihosomatskih tegoba. Retrosternalna bol uzrokovana gastrointestinalnom problematikom poput gastroezofagealne refluksne bolesti i ezofagitisa se javlja u do 10 % slučajeva, često u tijeku i neposredno nakon jela (8). Kardijalna etiologija je zastupljena u 0,5 – 2 % slučajeva, a najčešće se radi o bolestima poput perikarditisa, miokarditisa, poremećaja srčanog ritma, hipertrofične opstruktivne kardiomiopatije, aortne stenoze, prolapsa mitralne valvule, ishemije miokarda i anomalija koronarnih arterija (1, 2).

KLINIČKA EVALUACIJA DJETETA S BOLOVIMA U PRSNOM KOŠU

1. Anamneza

Prilikom evaluacije djeteta koje dolazi u ambulantu s bolovima u prsnom košu od neizmjerne je važnosti detaljno uzeti anamnezu. Prilikom toga treba pitati dijete i roditelje da, ako to mogu, detaljno opišu karakter bolova, jačinu, lokalizaciju bolova te okolnosti pod kojima se bolovi javljaju ili mijenjaju svoj karakter. Zatim, važno je pitati

Tablica 3. Alarmirajući znakovi

Bol u naporu
Sinkopa
Palpitacije
Promjene u EKG-u
Pozitivna obiteljska anamneza na iznenadnu srčanu smrt, nasljedne aritmije, genetske bolesti
Prethodne kardiokirurški zahvati i intervencije
Ranije bolesti: Kawasakijska bolest, kardiomiopatije, transplantirano srce

javlja li se bol u naporu ili mirovanju i ne zaboraviti pitati je li bol popraćena nekim drugim simptomima poput vrtoglavice, nesvjestice, nepravilnog ili ubrzanog rada srca, povišene tjelesne temperature te teškog i ubrzanog disanja. Treba utvrditi je li dijete prethodno bilo kardiološki ili kirurški liječeno ili bolovalo od Kawasakijske bolesti ili sistemske autoimune bolesti. Na muskuloskeletalnu etiologiju upućuju anamnestički podatci poput lokaliziranih bolova koji su jačeg intenziteta kod dubokog udaha, kretanja i kašljanja. Obično djeca navode da osjećaju bolnost kod palpacije rebra i prsne kosti. Kod respiratorne etiologije je bol obično stišćućeg karaktera, a može biti popraćena kašljem i osjećajem nedostatkom zraka. Bol kod pneumotoraksa je probadajuća karaktera, ipsilateralna, lokalizirana u gornjem i prednjem dijelu prsnog koša. Bol koja u podlozi ima gastrointestinalnu problematiku je retrosternalne lokalizacije, oštra i žareća karaktera te je vezana uz hranjenje i promjenu položaja tijela. Od popratnih simptoma neka djeca navode otežano gutanje. Bol kardiogene etiologije je rijetka i čini do 2 % svih slučajeva. Tipično je centralno locirana, širi se prema vratu i donjoj čeljusti i lijevoj nadlaktici. Javlja se u naporu i tjelesnoj aktivnosti. Djeca ih obično opisuju kao stežuću bol i težinu na prsima. Često su udruženi s presinkopalnim smetnjama, omaglicom, mučninom, bljedom i preznojavanjem. Iz obiteljske je anamneze važno saznati da li postoje članovi obitelji s ozbiljnim srčanim i/ili plućnim bolestima poput kardiomiopatije, nasljednih aritmija poput dugačkog QT sindroma i Brugada sindroma te svakako je li u obitelji bilo slučajeva iznenadne srčane smrti. Alarmirajući znakovi i simptomi koju mogu pomoći u razlučivanju radi li se o kardiogenim bolovima su navedeni u tablici 3.

2. Fizikalni pregled

Kod fizikalnog pregleda treba procijeniti opće stanje djeteta, izmjeriti vitalne parametre, puls, fre-

kvenciju disanja, arterijski tlak, zasićenost krvi kisikom na sobnom zraku, tjelesnu temperaturu. Potrebno je obratiti pažnju na djetetov vanjski izgled i obilježja koja mogu uputiti na Marfanov sindrom, Ehlers Danlos sindrom i Turner sindrom. Kod pregleda treba posebno obratiti pažnju na pregled prsnog koša, njegov oblik, postojanje deformiteta poput ljevkastog grudnog koša i skolioze torakalne kralježnice. Kod auskultacije srca treba voditi računa o pravilnosti srčanog ritma, frekvenciji te postojanju šumova. Prilikom auskultacije pluća treba obratiti pažnju na disajni šum i simetričnost disanja, te gledati kao se odiže toraks. Već se na taj način može postaviti sumnja na postojanje pneumotoraksa. Obavezno treba palpirati periferne arterijske pulzacije na rukama i nogama. Ukoliko anamnestički podatci i fizikalni pregled ne ukazuju na neko životno ugrožavajuće stanje, nije nužna žurna daljnja dijagnostička obrada ili intervencija te se dijete može uputiti kući, a daljnja se obrada može učiniti ambulantno.

Ako anamnestički podatci ili fizikalni pregled ukazuju na postojanje životno ugrožavajućeg stanja odnosno ako postoje neki od alarmirajućih znakova i simptoma navedenih u tablici 3., dijete treba uputiti u bolnicu, a ako su se roditelji s djetetom inicijalno javili u hitni bolnički prijem, treba ga primiti u bolnicu.

3. Dijagnostičke pretrage

Liječnik praktičar je gotovo svaki put kad pregledava dijete s bolovima u prsnom košu u dilemi treba li i koje pretrage učiniti kako bi se otkrio razlog bolova ne bi li se otkrilo što je djetetu, ali i smanjila zabrinutost i strah djeteta, a i roditelja. Ako podatci dobiveni anamnezom i/ili fizikalni status djeteta ukazuju da se možda radi o kardiogenim bolovima treba svakako učiniti elektrokardiogram (EKG) i preglednu snimku grudnih organa te ako je moguće nalaze krvi i specifične srčane enzime poput troponina T ili troponina I. EKG je osnovna i brza, neinvazivna pretraga koja može pomoći u otkrivanju akutnog srčanog stanja poput ishemije, miokarditisa, perikarditisa, poremećaja srčanog ritma. Pregledna snimka grudnih organa je česta dijagnostička metoda za kojom se poseže kod evaluacije pacijenta s bolovima u prsnom košu. Iako je niske osjetljivosti od 11 - 17 %, može pomoći u dokazivanju plućne etiologije bolesti tj.

stanja poput upale pluća, pneumotoraksa, pneumomediastinuma, pneumoperikarda i ocjeni postojanja eventualno kardiomegalije (9, 10). Važno je podsjetiti kako se u dojenčadi i male djece kardiorakalni indeks od 0.55 - 0.6 smatra normalnim, a u veće djece i adolescenata normalan od 0,42 - 0,50.

Ehokardiografija je od velikog značaja u daljnjoj obradi djece kod koje se sumnja da se radi o kardijalnoj etiologiji bolova u prsnom košu. Pomoću nje se može ocijeniti funkciju srca, postojanje perikardijalnog izljeva i anatomskih abnormalnosti. Rutinski se ne koristi u pedijatrijskim hitnim službama što potvrđuju studije koje su pokazale da se ehokardiografija izvodi u 1 % do 1,5 % svih posjeta hitnim bolničkim službama (10). Kad se na osnovu anamneze, fizikalnog statusa, EKG-a i pregledne snimke grudnih organa sumnja na srčanu bolest ordiniraju se specifični srčani biljezi poput troponina T ili troponina I koji mogu pomoći kod upalnih bolesti miokarda ili ishemije. U konačnici, nije rijetkost da se često poseže za nalazom kao što je B-tip natriuretski peptid koji je biomarker srčane patnje (6).

ZAKLJUČAK

Kao što je navedeno, bolovi u prsnom košu su čest razlog posjete ambulantama i hitnim bolničkim prijemima. Radi se o dijagnostičkom izazovu za liječnika kod kojega dijete i roditelji dolaze. Kako bi prepoznali one bolesnike koji u podlozi imaju životno ugrožavajuću bolest, važno je nakon detaljno uzete anamneze i fizikalnog statusa prepoznati postoje li alarmirajući znakovi navedeni u tablici 3 koji ukazuju na to da bolesnik u podlozi ima srčanu bolest. Cilj bi trebao biti na ovaj način otkriti one bolesnike koji zahtijevaju dodatnu, detaljniju obradu te evaluaciju kod subspecijalista (11). U velikoj većini slučajeva od dijagnostičkih alata su dovoljni EKG i/ili pregledna snimka grudnih organa te se daljnja obrada i praćenje može učiniti ambulantno. Samo mali broj djece traži neku dodatnu dijagnostičku i žurniju obradu ili trenutačnu hospitalizaciju (11). S obzirom na najčešću etiologiju bolova preporučuje se kod otpusta kući dati analgetsku terapiju npr. nesteroidnim antireumatikom. Sasvim je jasno da ne postoji uniformni dijagnostičko terapijski postupnik koji je evaluiran na način da se procjeni njegov

utjecaj na klinički ishod, troškove implementacije takvog postupnika i opterećenje zdravstvenih djelatnika (11). U budućnosti bi bilo dobro usuglasiti stav i pristup prema ovom problemu ne bi li još poboljšali kvalitetu rada te pravovremeno otkrili i adekvatno liječili one koji to trebaju. Isto tako racionalnije gospodarili resursima u ionako opterećenom zdravstvenom sustavu, a na opće zadovoljstvo djece i njihovih obitelji.

LITERATURA

1. Selbst SM, Ruddy RM, Clark BJ, et al. Pediatric chest pain: a prospective study. *Pediatrics*. 1988;82:319.
2. Drossner DM, Hirsh D, Sturm JJ, et al. Cardiac disease in pediatric patients presenting to a pediatric ED with chest pain. *Am J Emerg Med*. 2011;29:632–8.
3. Driscoll DJ, Glicklich LB, Gallen WJ. Chest pain in children: a prospective study. *Pediatrics*. 1976;57:648.
4. Friedman KG, Alexander ME. Chest pain and syncope in children: A practical approach to the diagnosis of cardiac disease. *J Pediatr*. 2013;163:896–901.
5. Chen L, Duan H, Li X, et al. The causes of chest pain in children and the criteria for targeted myocardial enzyme testing in identifying the causes of chest pain in children. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:582129. doi: 10.3389/fcvm.2021.582129.
6. Pissarra R, Pereira M, Amorim R, et al. Chest pain in a pediatric emergency department: Clinical assessment and management reality in a third-level Portuguese hospital. *Porto Biomed J*. 2022;7:e150.
7. Eliacik K, Kanik A, Bolat N, et al. Anxiety, depression, suicidal ideation, and stressful life events in non-cardiac adolescent chest pain: A comparative study about the hidden part of the iceberg. *Cardiol Young*. 2017;27:1098–1103.
8. Chen L, Duan H, Li G, Li X. The etiology of chest pain in children admitted to cardiology clinics and the use of echocardiography to screen for cardiac chest pain in children. *Front Pediatr*. 2022;10:882022. doi: 10.3389/fped.2022.882022.
9. Majerus CR, Tredway TL, Yun NK, Gerard JM. Utility of chest radiographs in children presenting to a pediatric emergency department with acute asthma exacerbation and chest pain. *Pediatr Emerg Care*. 2021;37:e372–e375.
10. Mohan S, Nandi D, Stephens P, et al. Implementation of a clinical pathway for chest pain in a pediatric emergency department. *Pediatr Emerg Care*. 2018;34:778–82.
11. Fogliazza F, Cifaldi M, Antoniol G, et al. Approaches to pediatric chest pain: A narrative review. *J Clin Med*. 2024;13:6659. doi: 10.3390/jcm13226659.

Adresa za dopisivanje:

Aleksandar Ovuka, dr. med.

Klinika za pedijatriju

KBC Rijeka

Vjekoslava Dukića 7, 51000 Rijeka

e-mail: aovuka1@gmail.com

SUMMARY

Chest pain

Aleksandar Ovuka

Chest pain is a frequent reason why children and adolescents visit physicians. Although most often benign, chest pain is a significant reason for absence from school and avoidance of sports activities. In addition, it causes concern and anxiety both in children and their parents. Etiologically, the most common causes of pain are musculoskeletal, psychogenic, and idiopathic. Up to 6 % of children have a serious or potentially life-threatening disease such as myopericarditis, hypertrophic cardiomyopathy, aortic dissection, spontaneous pneumothorax, pneumonia, or similar. Distinguishing benign conditions from potentially serious diseases is based on a detailed history and physical examination. Diagnostic tests include electrocardiogram, chest X-ray, echocardiography, blood count, inflammatory reactants, and specific cardiac enzymes such as troponin T or troponin I. This paper presents the most common causes of chest pain, and warning signs of underlying potentially life-threatening conditions, in order to detect those with potentially serious underlying diseases in the easiest possible way and treat them promptly.

Key words: CHEST PAIN; PERICARDITIS; CARDIOMYOPATHIES; PNEUMOTHORAX

Prirođene srčane greške – do kada ih pratimo?

Hrvoje Kniewald*

Do danas je prevalencija prirođenih srčanih grešaka (PSG) u cijelom svijetu oko 9 na 1000 novorođenčadi, uz značajne geografske varijacije. Dok je prevalencija teških kongenitalnih srčanih mana u padu u mnogim razvijenim zemljama zbog fetalnog probira i prekida trudnoće, ukupna prevalencija na globalnoj razini raste. Zbog medicinske, kirurške i tehnološke evolucije u prošlosti, više od 90 % pojedinaca sa PSG-om sada doživi odraslu dob. Kao rezultat toga, prevalencija u odraslih sa PSG-om (GUCH, engl. grown up congenital heart) u zajednici je porasla i sada daleko premašuje broj djece sa PSG-om.

PSG mogu se klasificirati kao blage (npr. bikuspidalna aortalna valvula, atrijski septalni defekt (maleni ili korigirani), pulmonalna stenoza), umjerene (npr. parcijalni anomalni utok plućnih vena, aortalna stenoza, koarktacija aorte, Ebsteinova anomalija, tetralogija Fallot) i teške (npr. univentrikulsko srce s Fontanovom cirkulacijom, pulmonalna atrezija, heterotaksija, zajednički arterijski trunkus).

Kada se bolesnici sa PSG približavaju odrasloj dobi, potreban im je prijelaz na skrb o GUCH-u. Ovom prijelazu treba prethoditi pripremna faza. Potrebna je posebna organizacija zdravstvene skrbi i programi obuke kako bi se zadovoljile potrebe ove skupine bolesnika. Važno je naglasiti da je skrb za GUCH cjeloživotni proces te zahtijeva strategije planiranja skrbi unaprijed. Pacijente je potrebno podijeliti u tri skupine: (i) pacijenti kojima je potrebna njega isključivo u specijalističkom centru, (ii) pacijenti za koje se može uspostaviti zajednička skrb s odgovarajućim općim kardiološkim službama za odrasle i (iii) pacijenti koji se mogu liječiti u nespecijaliziranim klinikama (s pristupom specijaliziranoj skrbi ako je potrebno).

Složenost srčane mane ne bi trebala biti jedini kriterij za dodjelu bolesnika određenoj razini skrbi. Iako se pacijentima sa složenim defektima lako može dodijeliti visoka razina skrbi, čak i anatomske jednostavni defekti mogu zahtijevati specijalističku skrb pod određenim okolnostima (npr. atrijski septalni defekt s plućnom arterijskom hipertenzijom). Stoga se preporučuje da se svi GUCH pacijenti jednom pregledaju u specijalističkom centru, što omogućuje stručnjacima za GUCH da odrede najprikladniju razinu skrbi i intervale praćenja za svakog pojedinog bolesnika. S rastućom populacijom odraslih osoba sa PSG-om, sve će se više pacijenata prvo javljati općim kardiolozima zbog akutnih stanja, poput aritmije, zatajenja srca ili endokarditisa. Posebnu pažnju treba posvetiti pacijentima koji nakon korekcije po Fontanu imaju aritmiju, jer se čak ni supraventrikularne aritmije ne podnose dobro.

Ključne riječi: SRČANE GREŠKE, PRIROĐENE; SEPTALNI DEFEKT, ATRIJSKI; SEPTALNI DEFEKT, VENTRIKULARNI; TETRALOGIJA FALLOT; DUGOROČNO PRAĆENJE; ODRASLA OSOBA

* Klinika za pedijatriju, KBC Sestre milosrdnice

UVOD

Dugoročno praćenje bolesnika s prirođenom srčanom greškom (PSG) ključno je za optimizaciju njihovih zdravstvenih ishoda i kvalitete života. Napredak u medicinskim i kirurškim tehnikama značajno je povećao stope preživljenja osoba s PSG-om (1, 2). Kao rezultat toga, rastuća populacija odraslih s prethodno dijagnosticiranim prirođenim stanjima sada zahtijeva stalnu skrb i predstavlja sve značajniji javno zdravstveni problem u razvijenim zemljama gdje postoji mogućnost učinkovitog liječenja (3).

Ključni čimbenici dugoročnog praćenja ovih pacijenata su:

1. Redovito praćenje: neophodno je doživotno praćenje kod kardiologa s iskustvom s PSG-ama. To uključuje redovite ehokardiogram, elektrokardiogram (EKG) i, kada je potrebno, magnetsku rezonancu (MR) srca ili druge dijagnostičke testove za praćenje rada srca i potencijalnih komplikacija.
2. Liječenje komplikacija: bolesnici s PSG izloženi su riziku raznih komplikacija, uključujući aritmije, zatajenje srca i plućna hipertenzija. Pravodobno otkrivanje i rješavanje ovih problema ključni su za sprječavanje teških ishoda.
3. Psihosocijalna podrška: mnoge odrasle osobe s PSG-om mogu doživjeti psihološke izazove, uključujući anksioznost, depresiju i probleme povezane sa samokontrolom svojeg stanja. Omogućavanje pristupa stručnjacima za mentalno zdravlje i mrežama podrške može biti korisno.
4. Prijelaz na skrb za odrasle: prijelaz s pedijatrijskog sustava zdravstvene skrbi na odraslu skrb može biti izazovan. Rano uspostavljanje jasnog plana za ovaj prijelaz pomaže pacijentima da se prilagode skrbi odraslih uz zadovoljenje svih svojih medicinskih potreba.
5. Preventivna skrb: bolesnici s PSG-om trebaju dobiti preventivnu skrb, uključujući cijepljenje, jer mogu biti izloženi povećanom riziku od infekcija. Obrazovanje o održavanju zdravog načina života, uključujući prehranu i tjelovježbu, također je od vitalnog značaja.
6. Multidisciplinarni pristup: skrb za osobe s PSG-om često zahtijeva doprinos različitih stručnjaka, uključujući kardiologe, kirurge, di-

jetetičare i stručnjake za mentalno zdravlje, kako bi se pozabavili svim aspektima zdravlja i dobrobiti (4-6).

Sveukupno, učinkovito dugoročno praćenje pacijenata s prirođenim srčanim greškama može dovesti do boljeg upravljanja njihovim stanjem, poboljšanja kvalitete života i produljenja dugovječnosti. Kontinuirano istraživanje i napredak u strategijama liječenja dodatno će poboljšati rezultate za ovu jedinstvenu populaciju.

ATRIJSKI SEPTALNI DEFJEKT

Naknadna skrb za pacijente s atrijskim septalnim defektom (ASD) ključna je za praćenje zdravlja njihova srca i upravljanje svim mogućim komplikacijama koje se mogu pojaviti (7). Pacijenti bi trebali biti podvrgnuti redovitim ehokardiografskim procjenama kako bi se procijenila veličina ASD-a, dimenzije desnog atrija i ventrikula te plućni tlak. Redoviti EKG pomaže u praćenju aritmija koje se mogu razviti kao posljedica greške (8). Bolesnici bi trebali biti oprezni na pojavu bilo kakvih novih simptoma, kao što su nedostatak zraka, umor, lupanje srca ili znakovi zatajenja srca. Rano prijavljivanje ovih simptoma može pomoći u pravovremenoj intervenciji. Dugogodišnji lijevo-desni pretok može dovesti do plućne hipertenzije. Redovite procijene važne su za proaktivno otkrivanje i upravljanje ovim stanjem. Pacijenti su izloženi većem riziku od atrijskih aritmija koje mogu zahtijevati liječenje lijekovima ili intervencijom (9, 10).

Bolesnici bi trebali dobiti smjernice o odabiru zdravog načina života, uključujući prehranu, tjelovježbu i izbjegavanje pušenja. Ovi čimbenici igraju značajnu ulogu u ukupnom kardiovaskularnom zdravlju.

Za one kojima je ASD dijagnosticiran u djetinjstvu, treba uspostaviti jasan plan prijelaza na skrb odraslih. To pomaže osigurati kontinuitet u skrbi i upravljanju.

Ako je ASD značajan ili ako se razviju klinički simptomi, može biti indicirana intervencija (bilo perkutano zatvaranje ili kirurški popravak). Praćenje uključuje procjene kako bi se odredilo odgovarajuće vrijeme za intervenciju. Suradnja između kardiologa, liječnika primarne zdravstvene zaštite i potencijalno drugih stručnjaka (poput pulmologa i psihologa) važna je za sveobuhvatnu skrb.

Edukacija pacijenata o njihovom stanju, mogućim komplikacijama i važnosti redovite kontrolne skrbi ključna je za njihovo osnaživanje da preuzmu aktivnu ulogu u upravljanju svojim zdravljem.

Ukratko, dugoročno praćenje bolesnika s ASD-om bitno je ne samo za praćenje rada srca i rješavanje bilo kakvih komplikacija, već i za održavanje njihove opće dobrobiti i promicanje zdravog načina života. Redoviti pregledi kod kardiologa i personalizirani plan skrbi prilagođen potrebama svakog pacijenta dovest će do boljih ishoda i poboljšanja kvalitete života (11).

VENTRIKULARNI SEPTALNI DEFEKT

Naknadna skrb za pacijente s ventrikularnim septalnim defektom (VSD) ključna je kako bi se osiguralo optimalno upravljanje zdravljem njihova srca i kako bi se riješile sve potencijalne komplikacije koje se mogu pojaviti tijekom rasta ili starenja.

Rutinski ehokardiogrami ključni su za procjenu veličine VSD-a, praćenje funkcije desne i lijeve klijetke i procjenu tlaka u plućnoj arteriji. Učestalost ovih procjena može varirati ovisno o veličini defekta i kliničkom statusu pacijenta. EKG-ovi pomažu u praćenju srčanog ritma i svih znakova naprezanja srca ili hipertrofije koji se mogu razviti tijekom vremena (12, 13).

Bolesnike (osobito dojenčad i djecu) treba nadzirati zbog simptoma kao što su otežano disanje, slabo napredovanje na tjelesnoj masi, infekcije (kao što je upala pluća) ili znakovi srčanog zatajenja. Svaki novi ili pogoršani simptom trebao bi zahtijevati hitnu procjenu.

Za značajne VSD-ove koji uzrokuju zatajenje srca, probleme s rastom ili plućnu hipertenziju, može biti potrebna kirurška intervencija (kirurški zahvat ili zatvaranje kateterom). Praćenje bi trebalo uključivati procjene progresije simptoma i dijagnosticirati kandidate za takve postupke. Bolesnici sa značajnim lijevo-desnim pretokom su izloženi riziku od razvoja plućne vaskularne bolesti. Potrebno je redovito praćenje aritmija, osobito kod starije djece i odraslih, jer oni mogu biti pod povećanim rizikom. Treba isključiti razvoj aortne (AR) ili trikuspidalne regurgitacije (TR), stupanj (rezidualnog) šanta, disfunkciju lijevog ventrikula (LV), povišenje tlaka u plućnoj arteriji (PAP, engl.

pulmonary artery pressure) ili razvoj DCRV (engl. *double-chambered right ventricle*), a ako je prisutan procijeniti ehokardiografijom. Mogući razvoj potpunog AV (atrijsko-ventrikularni) bloka zahtijeva pozornost (pacijenti koji razviju bifascikularni blok ili prolazni trifascikularni blok nakon zatvaranja VSD-a su u kasnijim godinama u opasnosti za razvoj potpunog AV bloka). Bolesnicima kojima je dijagnosticiran VSD karakteristika više od malog, rezidualnog, treba procijeniti postojanje valvularne lezije ili hemodinamskog oštećenja (disfunkcija LV ili PAH (engl. *pulmonary artery hypertension*)). Pregled je indiciran svake godine, uključujući procjenu u specijaliziranim centrima. U bolesnika s malim VSD-om (nativni ili rezidualni, normalan LV, normalan PAP, asimptomatska) i nepostojanje drugih lezija, razmaci od tri do pet godina mogu biti razumni. Nakon zatvaranja okluderom, savjetuje se redovito praćenje tijekom prve dvije godine, a zatim, ovisno o rezultatima, a razumno je svakih dvije do pet godina. Nakon kirurškog zatvaranja bez zaostalih abnormalnosti, razmaci od pet godina su razumni (14-16).

Važne su smjernice o održavanju zdravog načina života za srce. Naglasak treba staviti na uravnoteženu prehranu, odgovarajuću tjelesnu aktivnost te izbjegavanje štetnih tvari poput pušenja. Podrška mentalnom zdravlju i socijalnoj dobrobiti također je važna za djecu i odrasle s VSD-om. Pristup psihološkim uslugama, grupama podrške ili savjetovanju može pomoći pacijentima da se nose s izazovima povezanim s njihovim stanjem. Za one kojima je dijagnosticiran i liječen u djetinjstvu, treba uspostaviti nesmetan prijelaz na kardiološku skrb za odrasle. To osigurava kontinuitet skrbi i kontinuirano upravljanje njihovim stanjem. Edukacija pacijenata i njihovih obitelji o VSD-u, mogućim komplikacijama i važnosti redovitih kontrolnih posjeta je od vitalnog značaja. Osnaživanje pacijenata da prepoznaju simptome koji zahtijevaju liječničku pomoć ključno je za učinkovito liječenje.

Ukratko, sveobuhvatno dugoročno praćenje pacijenata s VSD-om neophodno je za praćenje komplikacija, procjenu funkcije srca i upravljanje svim simptomima povezanim s defektom. Redovite procjene kardiologa, prilagođene intervencije i pomoćni zdravstveni resursi mogu pomoći u poboljšanju ishoda i poboljšati kvalitetu života ovih pacijenata.

ATRIOVENTRIKULARNI SEPTALNI DEFEKT

Atrioventrikularni septalni defekt (AVSD), defekt AV kanala ili endokardijalnih jastučića, karakterizira prisutnost zajedničkog AV spoja. Djelomični AVSD obično ima defekt samo na razini atrija (primus ASD) ili, rijetki slučajevi, samo na razini ventrikula. Prednji i stražnji prenosni listići su središnje spojeni, stvarajući odvojene lijeve i desne otvore. U potpunom AVSD-u središnja fuzija nije prisutna i postoji samo jedan otvor. Kompletan AVSD (kompletan AV kanal) ima septalni defekt u „crux“ srca, koji se proteže u interatrijski i interventrikularni septum (nerestriktivni ulazni VSD). AV čvor je smješten posteriorno i inferiorno na koronarni sinus. Njegov snop i lijeva grana snopa su pomaknute posteriorno. Ovo objašnjava abnormalnu aktivaciju ventrikula (produljenje vremena AV provođenja, devijacija lijeve osi) i važno je prepoznati tijekom elektrofizioloških studija srca i kateterskih ablacija (18).

Većina potpunih AVSD-ova pojavljuje se u pacijenata s Downovim sindromom (>75 %), a većina parcijalnih AVSD-ova javlja se u pacijenata koji nemaju Downov sindrom (>90 %). AVSD se može pojaviti u kombinaciji s tetralogijom Fallot (TOF, engl. *Tetralogy of Fallot*) i drugim oblicima složenog PSG-a. AVSD s nejednakim položajem AV valvule popraćen je promjenjivim stupnjem ventrikularne hipoplazije (neuravnoteženi AVSD).

Sljedeće preporuke odnose se na uravnotežene AVSD-ove, koje je moguće korigirati na funkciju s dvije klijetke.

Preporučuje se redovito doživotno praćenje svih bolesnika s AVSD-om, operiranih i neoperiranih, uključujući procjenu u specijaliziranom centru. Posebnu pažnju treba obratiti na rezidualni pretok, funkciju AV valvula, proširenje i disfunkcija LV i desnog ventrikula (RV, engl. *right ventricle*), plućnu hipertenziju, LVOT (engl. *left ventricular outflow tract*) opstrukciju i aritmije. Učestalost ambulantnih posjeta ovisi o prisutnosti i ozbiljnosti rezidualnih abnormalnosti. Pacijent s kirurški saniranim AVSD-om bez značajnog ostatka abnormalnosti treba kontrolu svake dvije do tri godine. U slučaju zaostalih abnormalnosti, razmaci bi trebali biti kraći (19).

Indikacije za reoperaciju rezidualnih abnormalnosti usporedive su s indikacijama za primarni kirur-

ški zahvat. U operiranih bolesnika, najčešći problem je regurgitacija lijevog AV zaliska, no bitno je naglasiti da su ti zalisci različiti od mitralnih zaliska i teže se popravljaju.

Većina bolesnika s nekomplikiranim, popavljenim AVSD-om ne treba ograničavanje tjelesne aktivnosti. Mnogi će međutim imati ispodprosječne rezultate vježbanja kada se mjere rade objektivno. Pacijentima sa značajnim rezidualnim problemima valja individualizirati pristup (20).

Trudnoću dobro podnose bolesnice s potpunom korekcijom i bez značajnih rezidualnih lezija. Bolesnice s prekapilarnim PH treba savjetovati protiv trudnoće. U pravilu, pacijenti s rezidualnom regurgitacijom lijevog AV zaliska, koje nemaju indikacije za operaciju, relativno dobro podnose trudnoću, iako se tijekom trudnoće mogu dogoditi aritmije i pogoršanje regurgitacije AV zaliska.

VALVULARNA AORTALNA STENOZA

Najčešći uzrok kongenitalne valvularne aortne stenoze (AS) je BAV (bikuspidalna aortalna valvula). Do 80 % pacijenata s BAV će razviti dilataciju uzlazne aorte.

Bolesnici često ostaju asimptomatski dugi niz godina. Progresija stenoze varira i ovisi o početnoj težini, stupnju kalcifikacije, dobi i čimbenicima rizika za aterosklerozu. Kod BAV-a progresija je brža u onih pacijenata s većim ekscentričnostima linije zatvaranja i anteroposteriorno orijentiranom linijom zatvaranja. Prognoza je dobra, a iznenadna smrt je rijetka u asimptomatskih bolesnika s dobrom tolerancijom napora, čak i kada postoji stenoza.

Kada se jave simptomi (angina pectoris, dispneja ili sinkopa), prognoza se brzo pogoršava. U bolesnika s BAV-om smrtnost od srčanih oboljenja iznosi 0,3 % po bolesniku/godini praćenja. Učestalost disekcije aorte je 0,03 %, a endokarditisa 0,3 % po bolesniku/godini praćenja. Prošireni aortalni sinusi i/ili uzlazna aorta nađeni su u 45 % slučajeva bolesnika nakon devet godina praćenja.

Specifični klinički nalazi uključuju tipični sistolički šum iznad aortnog zaliska koji se širi u karotidne arterije. EKG može pokazati hipertrofiju LV (LVH). U bolesnika s dijagnozom BAV, treba isključiti

koarktaciju aorte (CoA). Ehokardiografija je zlatni standard za dijagnozu AS-a te za procjenu stupnja kalcifikacije, funkcije LV, LVH, i povezane lezije uključujući dilataciju uzlazne aorte. Doppler ehokardiografijom stupanj težine AS određuje se iz transvalvularne vršne brzine (V_{max}), srednjeg gradijenta, i područje aortne valvule (AVA) izračunato jednadžbom kontinuiteta. Transezofagealna ehokardiografija (TEE) može povremeno dati više anatomskih detalja o disfunkciji zaliska ili AVA planimetrija kod nekalcificiranih zalistaka. Testiranje tjelesnog opterećenja preporučuje se u asimptomatskih bolesnika, osobito kod umjereno teške AS-a, kako bi se potvrdio asimptomatski status i procijenila tolerancija tjelesnog napora, odgovor krvnog tlaka i aritmije, za stratifikaciju rizika i vrijeme operacije. Niska doza dobutamina ili ehokardiografija u opterećenju pomaže kod AS-a sa smanjenim udarnim volumenom i oslabljenom funkcijom LV (klasični AS niskog protoka, niskog gradijenta). Kateterizacija srca potrebna je samo ako je neinvazivna procjena daje nesigurne rezultate, za procjenu koronarnih arterija, ili kada dolazi u obzir perkutana balon angioplastika (21).

Potrebno je doživotno i redovito praćenje, a intervali ovise o stupnju težine stenoze. Praćenje je također potrebno i nakon balonske intervencije, ali u minimalnim godišnjim intervalima. Ehokardiografska slika aortnog zaliska i korijena aorte je potrebna zbog procjene progresije stenoze valvule i dilatacije aorte.

Bolesnici s teškom simptomatskom i asimptomatskom AS-om, te oni s umjerenom stenozom zbog BAV-a i proširene aorte, trebaju izbjegavati izometrijske vježbe i vježbe visokog intenziteta. U blagom i srednje teškom AS-u intenzivnija tjelesna aktivnost je dozvoljena. Preporučuje se prethodno ergometrijsko ispitivanje (22).

Trudnoća je kontraindicirana u teškim simptomatskim AS. Liječenje je potrebno izvesti (balonska valvuloplastika ili operacija) prije začeća. U asimptomatskih bolesnika s teškom AS i normalnim testom opterećenja, trudnoća može biti moguća u odabranim pacijentima (23).

TETRALOGIJA FALLOT

Tetralogiju Fallot karakteriziraju sljedeće četiri značajke: nerestriktivni VSD; jašuća aorta (ali <50

%); infundibularna, valvularna, supravvalvularna stenoza RVOTO (engl. *right ventricular outflow tract obstruction*) i/ili grane PA (plućne arterije); te posljedična hipertrofija RV (RVH, engl. *right ventricular hypertrophy*). Bolesnici s TOF mogu se dodatno podijeliti u skupine pacijenata sa sindromom (20 %; kao što su: mikrolelecija 22q11, trisomija 21, Alagille, Noonan, Williams i Klippel Feil) i nesindromski pacijenti (koji predstavljaju veliku većinu). Standardizirana stopa smrtnosti među pacijentima s popraavljenim TOF-om je gotovo dvostruko veća nego kod bolesnika s jednostavnim defektima (ASD i VSD) (24, 25).

Kirurški popravak TOF-a evoluirao je tijekom vremena. Najčešće RVOTO uključuje infundibulotomiju, resekciju opstrukcije mišićnih snopova i korištenje „patcha“ za povećanje protoka iz RV do PA. Uobičajene komplikacije u odrasloj dobi su: pulmonalna insuficijencija koja se gotovo uvijek javlja nakon popravka transanularnog „patcha“. Pulmonalna insuficijencija se obično dobro podnosi godinama, no teška i kronična, međutim, na kraju dovodi do simptomatske dilatacije RV i disfunkcije. Ozbiljnost plućne insuficijencije i njezina dugotrajna štetnost dodatno su pojačani koegzistirajućim distalnim stenozama PA ili PAH-om.

Rezidualna RVOT opstrukcija se može pojaviti na infundibulumu, u razini plućnog zaliska i glavne plućne arterije, te u lijevoj i desnoj grani.

Povišen tlak u RV i RVH opisani su kao nezavisni čimbenici rizika za loš ishod, a ostatni VSD može biti posljedica djelomične dehiscencije ili nepotpunog zatvaranja u vrijeme operacije, te može dovesti do volumnog opterećenja LV-a.

Atrijalne, ventrikularne aritmije i iznenadna smrt (SCD, engl. *sudden cardiac death*) važne su kasne komplikacije. Procijenjena životna prevalencija atrijskih aritmija je 20 %. Ventrikularne aritmije obuhvaćaju polimorfnu VT (ventrikularnu tahikardiju) i/ili VF (ventrikularnu fibrilaciju), i tipično su povezane s ozbiljno oštećenom funkcijom RV i LV. Mogući čimbenici rizika povezani s bilo kojom ventrikularnom aritmijom i SCD u rTOF su trajanje QRS ≥ 180 ms, sistolička ili dijastolička disfunkcija LV i inducibilna VT pri elektrofiziološkom testiranju. Endokarditis se može javiti i nakon kirurške i nakon perkutane PVRep. Protetika koja sadrži valvulu je važan neovisni čimbenik rizika za infektivni endokarditis (IE) kratkoročno i dugoročno

nakon implantacije, dok protetika koja ne sadrži zalistak faktor su rizika samo tijekom prvih šest mjeseci nakon implantacija (26).

Svi bolesnici s TOF-om trebali bi se povremeno kontrolirati u specijaliziranom centru, u većine bolesnika jednom godišnje. Kontrolni pregledi obuhvaćaju ehokardiografiju, EKG, 24-satni holter EKG i ergometrijsko ispitivanje (27).

ZAKLJUČAK

Napretkom pedijatrijske kardiologije značajno se promijenila paradigma života s prirođenom srčanom greškom. Pravovremenom dijagnozom i liječenjem u najvećem broju djece i odraslih s prirođenim srčanim greškama postiže se izvrstan dugoročni ishod s kvalitetom života koja je posve usporediva s vršnjacima u svim aspektima socijalizacije. No, mora se istaknuti da gotovo sve prirođene srčane greške zahtijevaju doživotno praćenje u medicinskoj službi i traganje za kasnim komplikacijama učinjenih procedura u ranoj životnoj dobi, kao i praćenje prirodne evolucije srčanih grešaka tijekom rasta i razvoja. Cjelovitim zbrinjavanjem djece i odraslih s prirođenim srčanim greškama može se postići optimalna integracija u društvu uz minimalizaciju stigmatizacije.

LITERATURA

1. van der Linde D, Konings EE, Slager MA, et al. Birth prevalence of congenital heart disease worldwide: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2011;58: 2241-7.
2. Liu Y, Chen S, Zuhlke L, et al. Global birth prevalence of congenital heart defects 1970-2017: updated systematic review and meta-analysis of 260 studies. *Int J Epidemiol.* 2019;48:455-63.
3. Moons P, Bovijn L, Budts W, Belmans A, Gewillig M. Temporal trends in survival to adulthood among patients born with congenital heart disease from 1970 to 1992 in Belgium. *Circulation.* 2010;122:2264-72.
4. Marelli AJ, Ionescu-Ittu R, Mackie AS, Guo L, Dendukuri N, Kaouache M. Lifetime prevalence of congenital heart disease in the general population from 2000 to 2010. *Circulation.* 2014;130:749-56.
5. Moons P, Meijboom FJ, Baumgartner H, Trindade PT, Huyghe E, Kaemmerer H. Working ESC Group on Grown-up Congenital Heart Disease. Structure and activities of adult congenital heart disease programmes in Europe. *Eur Heart J.* 2010;31:1305-10.
6. Baumgartner H, Budts W, Chessa M, et al. Working Group on Grown-up Congenital Heart Disease of the European Society of Cardiology. Recommendations for organization of care for adults with congenital heart disease and for training in the subspecialty of 'Grown-up Congenital Heart Disease' in Europe: a position paper of the Working Group on Grown-up Congenital Heart Disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2014;35: 686-90.
7. Nyboe C, Karunanithi Z, Nielsen-Kudsk JE, Hjortdal VE. Long-term mortality in patients with atrial septal defect: a nationwide cohort study. *Eur Heart J.* 2018;39:993-8.
8. Gatzoulis MA, Freeman MA, Siu SC, Webb GD, Harris L. Atrial arrhythmia after surgical closure of atrial septal defects in adults. *N Engl J Med.* 1999;340:839-46.
9. Murphy JC, Gersh BJ, McGoon MD, et al. Long-term outcome after surgical repair of isolated atrial septal defect. Follow-up at 27 to 32 years. *N Engl J Med.* 1990;323: 1645-50.
10. Roos-Hesselink JW, Meijboom FJ, Spitaels SE, et al. Excellent survival and low incidence of arrhythmias, stroke, and heart failure long-term after surgical ASD closure at young age. A prospective follow-up study of 21-33 years. *Eur Heart J.* 2003;24:190-7.
11. Attie F, Rosas M, Granados N, Zabala C, Buendia A, Calderon J. Surgical treatment for secundum atrial septal defects in patients >40 years old. A randomized clinical trial. *J Am Coll Cardiol.* 2001;38:2035-42.
12. Lopez L, Houyel L, Colan SD, et al. Classification of ventricular septal defects for the Eleventh Iteration of the International Classification of Diseases – striving for consensus: a report from the International Society for Nomenclature of Paediatric and Congenital Heart Disease. *Ann Thorac Surg.* 2018;106:1578-89.
13. Miyake T, Shinohara T, Fukuda T, Ikeoka M, Takemura T. Spontaneous closure of perimembranous ventricular septal defect after school age. *Pediatr Int.* 2008;50:632-5.
14. Gabriel HM, Heger M, Innerhofer P, et al. Long-term outcome of patients with ventricular septal defect considered not to require surgical closure during childhood. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:1066-71.
15. Neumayer U, Stone S, Somerville J. Small ventricular septal defects in adults. *Eur Heart J.* 1998;19:1573-82.
16. Menting ME, Cuypers JA, Opic P, et al. The unnatural history of the ventricular septal defect: outcome up to 40 years after surgical closure. *J Am Coll Cardiol.* 2015;65: 1941-51.
17. Meijboom F, Szatmari A, Utens E, et al. Long-term follow-up after surgical closure of ventricular septal defect in infancy and childhood. *J Am Coll Cardiol.* 1994;24:1358-64.
18. Gatzoulis MA, Hechter S, Webb GD, Williams WG. Surgery for partial atrioventricular septal defect in the adult. *Ann Thorac Surg.* 1999;67:504-10.

19. El-Najdawi EK, Driscoll DJ, Puga FJ, et al. Operation for partial atrioventricular septal defect: a forty-year review. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;119:880-9.
20. Malhotra SP, Lacour-Gayet F, Mitchell MB, Clarke DR, Dines ML, Campbell DN. Reoperation for left atrioventricular valve regurgitation after atrioventricular septal defect repair. *Ann Thorac Surg.* 2008;86:147-51.
21. Rosenhek R, Binder T, Porenta G, et al. Predictors of outcome in severe, asymptomatic aortic stenosis. *N Engl J Med.* 2000;343:611-7.
22. Tzemos N, Therrien J, Yip J, et al. Outcomes in adults with bicuspid aortic valves. *JAMA.* 2008;300:1317-25.
23. Baumgartner H, Hung J, Bermejo J, et al. Recommendations on the echocardiographic assessment of aortic valve stenosis: a focused update from the European Association of Cardiovascular Imaging and the American Society of Echocardiography. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2017;18:254-75.
24. Morgenthau A, Frishman WH. Genetic origins of Tetralogy of Fallot. *Cardiol Rev.* 2018;26:86-92.
25. Wu MH, Lu CW, Chen HC, Kao FY, Huang SK. Adult congenital heart disease in a nationwide population 2000-2014: epidemiological trends, arrhythmia, and standardized mortality ratio. *J Am Heart Assoc.* 2018;7:e007907.
26. Samad MD, Wehner GJ, Arbabshirani MR, et al. Predicting deterioration of ventricular function in patients with repaired tetralogy of Fallot using machine learning. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2018;19:730-8.
27. Freling HG, Willems TP, van Melle JP, et al. Effect of right ventricular outflow tract obstruction on right ventricular volumes and exercise capacity in patients with repaired tetralogy of Fallot. *Am J Cardiol.* 2014;113:719-23.
28. Ordoas KG, Keedy A, Naeger DM, et al. Dilatation of the ascending aorta is associated with presence of aortic regurgitation in patients after repair of tetralogy of Fallot. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2016;32:1265-72.

Adresa za dopisivanje:

Hrvoje Kniewald, dr. med.

Klinika za pedijatriju, KBC Sestre milosrdnice

Vinogradska 29, 10000 Zagreb

E-mail: hrvoje.kniewald@gmail.com

SUMMARY

Congenital heart defects - how long do we monitor them?

Hrvoje Kniewald

To date, the worldwide prevalence of congenital heart defects (CHD) is around 9 per 1000 live births, with significant geographic variation. While the prevalence of major CHD is declining in many developing countries due to fetal screening and pregnancy termination, the overall prevalence is globally increasing. Due to medical, surgical, and technological advances over the past decades, more than 90 % of individuals born with CHD now survive to adulthood. As a result, the prevalence of adult CHD (GUCH) in the community has increased and now far exceeds the number of children with PSG.

CHD can be classified as mild (eg, bicuspid aortic valve, ASD (small or corrected), pulmonary stenosis), moderate (eg, PAPVR, aortic stenosis, coarctation of the aorta, Ebstein anomaly, tetralogy of Fallot) and severe (eg, univentricular heart with Fontan circulation, pulmonary atresia, heterotaxy, common arterial trunk).

As CHD patients approach adulthood, they require transfer to GUCH care. This transfer should be preceded by a preparatory transitional phase, which continues into adulthood according to

the patient's needs. Special healthcare organizations and training programs are needed to meet the needs of these patients. Importantly, caring for GUCH is a lifelong process and also requires advanced care planning strategies. Patients need to be stratified into 3 groups: (i) patients requiring care exclusively in a specialist center, (ii) patients for whom shared care can be established with appropriate general adult cardiology services, and (iii) patients who can be treated in non-specialized clinics (with access to a specialist if necessary).

The complexity of the heart defect should not be the only criterion for assigning patients to a particular level of care. Although patients with complex defects can easily be assigned to a high level of care, even anatomically simple defects may require specialist care under certain circumstances (e.g. atrial septal defect with pulmonary arterial hypertension). It is therefore recommended that all GUCH patients are seen once in a specialized center, which allows GUCH specialists to determine the most appropriate level of care and follow-up intervals for each patient. With the growing population of adults with CHD, more and more patients will first present to general cardiologists for acute conditions such as arrhythmia, heart failure, or endocarditis. Special attention should be attributed to patients who develop arrhythmia after Fontan correction, as even supraventricular arrhythmias are not well tolerated.

Key words: HEART DEFECTS, CONGENITAL; HEART SEPTAL DEFECTS, ATRIAL;
HEART SEPTAL DEFECTS, VENTRICULAR; TETRALOGY OF FALLOT;
LONG-TERM CARE; ADULT

Pedijatrijska elektrofiziologija

Nikola Krmek*

Elektrofiziologija se u zadnja tri desetljeća nametnula kao važna dijagnostička i terapijska metoda, često i prvi izbor u liječenju aritmija. Kod ove metode upotrebom kateterskih elektroda ulazi se u srce kroz centralne vene ili arterije kako bi se odredio točan aritmološki supstrat te često i prekinulo njegovu aktivnost ablacijom.

Najveći iskorak u smanjenju količine ionizirajućeg zračenja kod ovih zahvata je nastao uvođenjem 3D sustava za mapiranje. Ovi sustavi omogućuju prostorno smještanje katetera te stvaranje mape anatomije srca i električne aktivnosti. Intrakardijalni elektrogram se sprema te se vrijeme aktivacije može uspoređivati s nekom referentnom točkom. Omogućuje stvaranje aktivacijske mape koja pokazuje način širenja signala kroz srce što povećava preciznost rada u odnosu na zahvata učinjene isključivo pomoću rendgenskog zračenja. Ovo i značajno smanjuje ozračenje pacijenata što nam je posebno važno u dječjoj dobi.

Godišnje se u Hrvatskoj napravi > 2000 elektrofizioloških postupaka kod svih dobnih skupina, a u Europi skoro 300000. Kod djece se u Hrvatskoj 2024. godine učinilo nešto više od 100 elektrofizioloških postupaka.

Ovakvim načinom liječenja postiže se trajno izlječenje aritmije što je najveća prednost ove metode u odnosu na jedinu drugu opciju, a to je medikamentozno liječenje. Ne postoji lijek koji može definitivno zbrinuti neku aritmiju, već se njegov učinak vidi jedino dok ga osoba redovito uzima. Budući je potrebno dugogodišnje uzimanje lijekova koji imaju svoje nezanemarive nuspojave, jasno je zašto se elektrofiziologija, unatoč svojim rizicima, sve više i više koristi i to kao prva razina liječenja.

Ključne riječi: ELEKTROFIZIOLOGIJA; SRCE; DIJETE; ARITMIJE, SRČANE

UVOD

Srčane aritmije u dječjoj dobi predstavljaju izazov u dijagnosticiranju kao i u liječenju. Klinički se dijele na hemodinamski stabilne i hemodinamski nestabilne. Kod hemodinamski nestabilnih simptomi se javljaju brzo i lakše su prepoznatljivi, poput lošeg općeg stanja, bljedila, sinkope, izbjegnute srčane smrti. Kod ovih aritmija liječenje zahtjeva brzu reakciju. Kod hemodinamski stabilnih aritmija, koje su puno češće u dječjoj dobi, anamneza i sam izgled djeteta, pogotovo kod dojenčadi, ne

moraju odmah upućivati na aritmiju. Tako da djeca ponekad ostavljaju dojam da imaju sepsu ili loše napreduju na težini, a zapravo im je osnovni problem srčana aritmija.

Ono što je pozitivno, aritmije se u dječjoj dobi najčešće mogu dobro kontrolirati i izliječiti, ali ipak nose svoje rizike koji nisu zanemarivi. Clausen i sur. prikazuju da od djece primljene kroz hitni prijem zbog aritmije njih 3 % je umrlo u bolnici (1). Gilljam

*KBC Sestre milosrdnice, Vinogradska 29, Zagreb

i sur. (2) prikazuju seriju 109 dojenčadi sa supraventrikularnom tahikardijom (SVT) od kojih je pet umrlo zbog srčanog zatajenja. Zato je važno aritmije dobro poznavati i diferencijalno dijagnostički razmišljati o njima kod pregledavanja pacijenata.

Obrada pacijenata sa sumnjom na poremećaj ritma

Anamnestički podaci koji se dobivaju od roditelja, odnosno skrbnika te od djeteta ovise o dobi djeteta (3). Kod dojenčeta radi se o epizodama bljedila ili znojenja, nenapredovanje na tjelesnoj težini. Kod nešto veće djece osjećaj straha, prekordijalne boli, bljedoća, pojačano znojenje, nemir, dispneja (3). Kod adolescenata se već kao i kod odraslih dobiva podatak o palpitacijama, eventualno vrtoglavici, bolima u prsištu (3). U svim uzrastima može se javiti sinkopa pa i uz konvulzivne elemente. Konvulzije su u ovakvim prilikama posljedica ishemije mozga uslijed slabe hemodinamske opskrbe mozga.

Uz anamnezu i klinički pregled u obradi djeteta kod kojeg postoji sumnja na aritmiju zlatni standard je elektrokardiogram (EKG). Ponekad, zbog kraćeg trajanja aritmije nije ga moguće učiniti za vrijeme simptoma pa se onda radi 24 h/48 h EKG po holteru. Kod puno rjeđeg javljanja aritmije koja je simptomatska ponekad postoji indikacija za ugradnju implantabilnog „looprecordera“. Također, aritmije koje se javljaju u naporu često se mogu dijagnosticirati testom opterećenja – ergometrijom (4). Ponekad, unatoč i jako širokoj obradi, EKG se u aritmiji ne uspije snimiti. Uz jasnu anamnezu naglog nastanka i prestanka simptoma („on/off“ fenomen) i izmjerenu visoku srčanu frekvenciju u više navrata, može se indicirati i dijagnostički elektrofiziološki postupak koji se u slučaju izazivanja tahikardije izravno nastavlja u terapijski postupak, odnosno učini se ablacija.

Poremećaji ritma koji se mogu liječiti elektrofiziološkim postupkom

Poremećaji ritma ili aritmije koje je moguće elektrofiziološki zbrinjavati prema mehanizmu nastanka dijeli se na supraventrikularne i ventrikularne.

Supraventrikularne aritmije obuhvaćaju supraventrikularne ekstrasistole, atrijsku tahikardiju

(AT) u užem smislu, atrijsku undulaciju, atrijsku fibrilaciju, atrioventrikularnu kružnu tahikardiju, atrioventrikularnu nodalnu kružnu tahikardiju, junkcijsku ektopičnu tahikardiju i permanentnu junkcijsku recipročnu tahikardiju.

U ventrikularne aritmije koje se u pedijatrijskoj dobi liječe i elektrofiziološkom ablacijom ubrajaju se ventrikularne ekstrasistole (VES), akcelerirani idioventrikularni ritam, fascikularna ventrikularna tahikardija (VT), VT iz izlaznog trakta.

Druge ventrikularne aritmije se također mogu elektrofiziološki zbrinjavati i u dječjoj dobi, ali su izuzetno rijetke te postoje na razini prikaza nekoliko slučajeva u literaturi. Na primjer, VT kod ishemijske kardiomiopatije koja je u odrasloj dobi česta nakon infarkta miokarda, u dječjoj se izuzetno rijetko susreće, a i tada najčešće postoperativno.

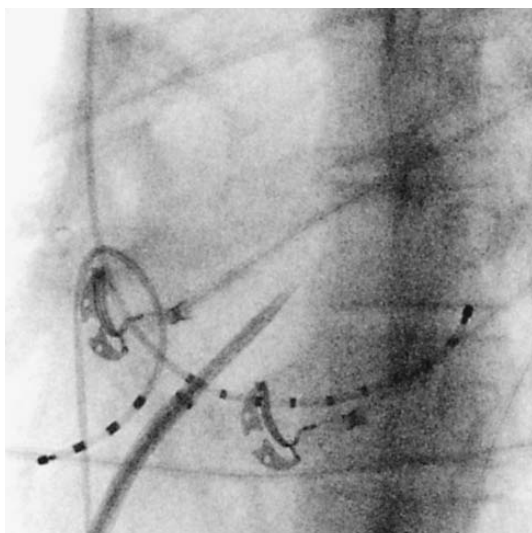
Elektrofiziološki postupci na srcu

Elektrofiziologija se u zadnja tri desetljeća nametnula kao važna dijagnostička i terapijska metoda, često i prvi izbor u liječenju aritmija. Prve elektrofiziološke studije su zabilježene u 60-im godinama prošlog stoljeća (5, 6). Kod ove metode upotrebom kateterskih elektroda ulazi se u srce kroz centralne vene ili arterije kako bi se odredio točan aritmološki supstrat te često i prekinulo njegovu aktivnost ablacijom.

Postupak se radi u posebno opremljenoj elektrofiziološkoj sali. S obzirom na pristup centralnim venama i arterijama, cijeli postupak se mora obavljati u aseptičnim uvjetima.

U krvne žile ulazi se metodom po Seldingeru, odnosno prvo se radi punkcija iglom preko koje se plasira žica u krvnu žilu. Preko žice se stavlja uvodnica s dilatatorom koji se potom vadi van. Svaka uvodnica se mora aspirirati i proprati kako bi se odstranili eventualni mjehurići zraka i spriječila zračna embolija. Klasično se postavljaju ukupno četiri uvodnice, u femoralnu i jugularnu venu. Ponekad, kod retrogradnog pristupa u lijevu klijetku punktira se i femoralna arterija. U posljednje vrijeme retrogradni pristup je većinom zamijenjen transeptalnim pristupom lijevoj strani srca (Slika 1.) jer se tada izbjegava manipulacija preko aortalne valvule koja se time može oštetiti (7).

Kroz uvodnice se plasiraju elektrode u područje desnog ventrikula, koronarnog sinusa, Hisa i gor-



Slika 1. Primjer transseptalne punkcije s prikazom katetera pomoću rendgenskog zračenja

njeg desnog atrija. Kod djece, kako bi se izbjeglo stavljanje jedne uvodnice zbog veličine krvnih žila, za His i gornji desni atrij stavlja se jedan kateter kojem se zatim mijenja pozicija ovisno o očekivanoj patologiji te fazi elektrofiziološke studije. Umjesto te elektrode se nakon studije plasira ablacijski kateter. Po potrebi, u srce se može postaviti i sonda ultrazvučnog uređaja (ICE, engl. *intracardiac echocardiography*) koji omogućuje gledanje struktura i provjeru smjera i položaja katetera iz blizine u stvarnom vremenu. Negativnost ove metode je, uz cijenu, i debljina sonde koja se kreće od 9 - 11 frencha što, za posebno manju djecu, podiže mogućnost nastanka vaskularne ozljede.

Elektrofiziološka sala za vrijeme pedijatrijskog postupka prikazana je na slici 2, gdje se vidi sterilno pokriveno dijete s uvodnicama jugularno i femoralno, uz monitoring vitalnih funkcija i elektrofiziološke sustave za mapiranje. Rendgenski uređaj nije standardno u upotrebi, nego ga se dovodi po potrebi. U slučaju nekih elektrofizioloških postupaka koji se provode korištenjem 3D navigacijskog sustava moguće je izbjeći korištenje rendgenskog zračenja (8–10).

Elektrofiziološka studija počinje inkrementalnom stimulacijom ventrikla i određivanjem Wenckebacha retrogradno, AV čvora, AP-a ili ventrikla. Potom slijedi programirana stimulacija ventrikla i određivanje efektivnog refraktornog perioda retrogradno. Nakon toga se radi inkrementalna stimulacija pretklijetki i određivanje Wenckebacha



Slika 2. Prikaz elektrofiziološke sale za vrijeme postupka kod djeteta

anterogradno te programiranom stimulacijom određivanje anterogradnog efektivnog refraktornog perioda.

Ako se za vrijeme studije uspije izazvati aritmija, onda se nju posebno analizira. Promatra se sekvencija aktivacije intrakardijalnih elektroda te se izvode elektrofiziološki manevri poput „*entrainment*“, His refraktorne VES i tako dalje.

Jednom kad je dokazan mehanizam aritmije, u srce se plasira ablacijski kateter.

Ablacija se može raditi radiofrekventnom energijom (RF), odnosno zagrijavanjem ili krioablacijom odnosno zamrzavanjem (11). Druge metode ablacije npr. laserska, su značajno manje zastupljene ili su tek u fazi ispitivanja (12). Koja god metoda se koristila cilj ablacije je, u osnovi, stvaranje manjeg ožiljka, koji je vezivno tkivo te nema elektrofiziološku aktivnost.

Prednost radiofrekventne ablacije je kraće vrijeme nastanka lezije, dublja lezija te manji broj recidiva (13), dok su nedostaci šire područje lezije, mogućnost termalne ozljede okolnih struktura - na primjer AV čvora ili koronarnih arterija, mogućnost stvaranja mjehurića zraka, „pop“, kao posljedica lokalnog vrenja krvi i potom razaranja okolnih struktura (12, 14, 15).

Najvažnija prednost krioablacije je kriomapiranje gdje se temperatura katetera i zatim tkiva spušta na oko -30 °C, na kojoj prestaje električna aktivnost tkiva, ali ne nastaju trajna oštećenja. Ta mogućnost koristi se kod ablacije AP-ova u blizini normalnog provodnog sustava. Ukoliko se na toj

temperaturi primijeti prestanak aktivnosti AV čvora, kriomapiranje se prekida, a funkcija tkiva se vraća na normalnu. Ako dođe do nestanka pre-ekscitacije kao znak zamrzavanja AP-a, uz uredan PR interval kao dokaz uredne funkcije AV čvora, nastavlja se s krioablacijom. Tada se temperatura spušta na oko -70°C što dovodi do trajnog oštećenja AP-a uz očuvanu funkciju AV čvora. Druga velika prednost je što se zamrzavanjem ovi kateteri fiksiraju uz tkivo pa nema mogućnosti pomicanja katetera u tijeku ablacije, kao što je moguće kod radiofrekventnih ablacijskih katetera. Zbog toga je područje ozljede tkiva manje i oštrije ograničeno.

Nakon ablacije slijedi period čekanja kako bi se vidjelo hoće li neposredno nakon ablacije doći do recidiva, a dok su svi kateteri još na mjestu te je jednostavno ponoviti ablaciju. Ovo vrijeme se razlikuje između elektrofizioloških centara, a obično je između 10 i 30 minuta.

Ukoliko nakon završetka čekanja aritmološki supstrat i dalje ne pokazuje aktivnost, odstranjuju se kateteri i uvodnice te se učini kompresijska hemostaza. Dijete se potom smješta na odjel uz praćenje vitalnih funkcija. Otpust doma slijedi prvi ili drugi dan od postupka.

Sustavi za 3D mapiranje srčane anatomije i aritmija

U pedijatrijskoj elektrofiziologiji najveći iskorak u smanjenju količine ionizirajućeg zračenja je nastao uvođenjem 3D sustava za mapiranje. Ovi sustavi omogućuju prostorno smještanje katetera te stvaranje mape anatomije srca i električne aktivnosti. Intrakardijalni elektrogram se sprema te se vrijeme aktivacije može uspoređivati s nekom referentnom točkom. Omogućuje stvaranje aktivacijske mape koja pokazuje način širenja signala kroz srce. Tako se dolazi do zaključka o fokalnom obrascu širenja signala odnosno većem ili manjem kružnom kretanju tahikardije. Kod kružnih aritmija lakše se određuje gdje se nalazi istmus tahikardije koji će potom biti ciljno mjesto za ablaciju. Sustavi mogu prikazati i napon pojedinih regija miokarda iz čega je moguće donositi zaključke o zdravlju podležećeg miokarda. Kod djece ovo posebno dolazi do izražaja kod operiranih srčanih grešaka jer liječniku omogućuje „vidjeti“ gdje su postoperacijski ožiljci koji su vrlo često uzrok nastanka aritmije. Ablacijskim povezivanjem ožiljka

s električki neutralnim strukturama u srcu moguće je izlječenje.

Treba imati na umu da, iako moćni, ovi sustavi i dalje ne mogu dati definitivnu dijagnozu ili sami odrediti mjesto za ablaciju. I dalje operater odlučuje koji su signali prihvatljivi, kad počinje signal od interesa i na kojem kateteru, koji je prozor interesa. S ovim odlukama operater zapravo crta mapu koja će mu omogućiti izolaciju ispravnog mjesta za ablaciju.

Dva najzastupljenija 3D sustava za mapiranje su „Ensite NavX“ sustav tvrtke Abbott te „Carto“ sustav tvrtke Johnson&Johnson. Razlikuju se po načinu prikaza katetera te tehnologiji kojom to uspijevaju.

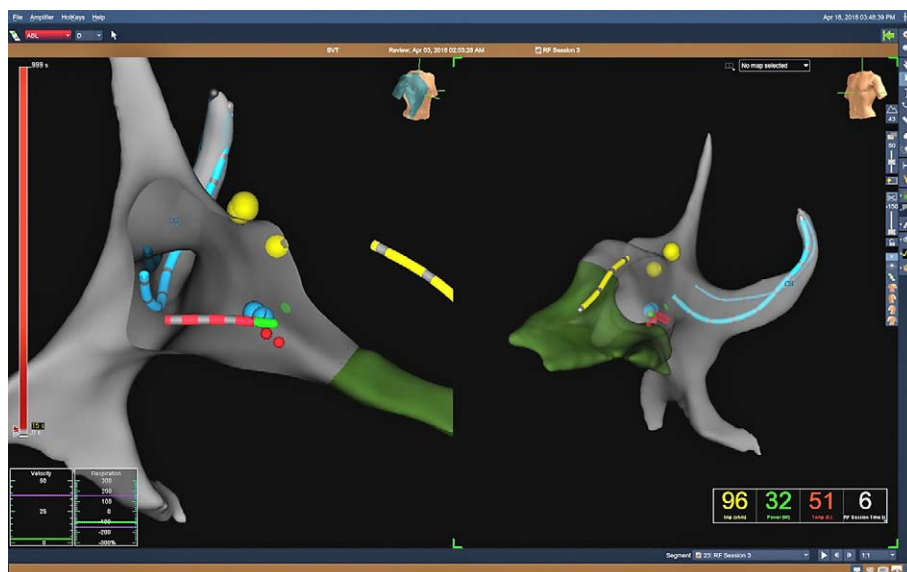
Ensite NavX sustav tvrtke Abbott

Kod djece se najčešće koristi NavX sustav tvrtke Abbott koji omogućuje prikaz svih katetera (Slika 3.) uz pomoć tri para referentnih elektroda zalijepljenih na površinu kože u različitim ravninama. Električni signal isporučuje se naizmjenično kroz svaki par elektroda, stvarajući gradijent napona duž osi između njih. Koristeći zabilježene napone u elektроди na vršku katetera, u usporedbi s gradijentom napona na sve tri osi, sustav izračunava 3D položaj katetera. Zadnja verzija ovog sustava koristi promjene impedancije umjesto napona. Zbog visoke frekvencije koju koristi (204 Hz), sustav može u stvarnom vremenu prikazivati 132 elektrode.

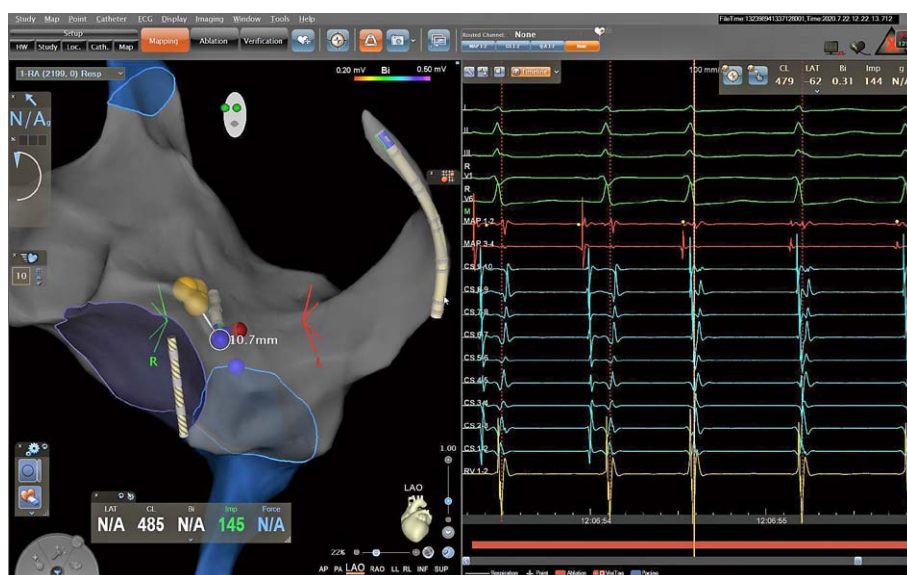
S obzirom na to da u kateteru nisu potrebni dodatni senzorski sustavi osim mjerenja napona, na ovaj sustav se mogu priključiti svi kateteri. Ovo posebno dolazi do izražaja kod djece jer je moguće koristiti manje katetere i dalje ih vidjeti na 3D sustavu bez korištenja rendgenskoga zračenja. Također, ovaj sustav prikazuje i fokalne krioablacijske katetere.

Carto sustav tvrtke Johnson&Johnson

Drugi 3D sustav za mapiranje je Carto, tvrtke Johnson&Johnson (Slika 4.), koji koristi magnetsko polje za lokalizaciju katetera. Kod ovog sustava zavojnice se smještaju ispod pacijenta, one stvaraju magnetsko polje slabe snage na temelju kojeg kateter sa senzorom magnetskog polja može slati te podatke računalu, koje potom izračunava smještaj katetera u prostoru (16). Budući da ovaj sustav ne može prikazivati sve katetere,



Slika 3. Prikaz anatomije srca i elektrofizioloških katetera pomoću NavX sustava tvrtke Abbott



Slika 4. Ablacija AVNRT-a prikazana Carto 3D sustavom za mapiranje tvrtke Johnson&Johnson

kao na primjer 5F ablacijske katetere često korištene kod manje djece, on se znatno manje koristi u pedijatrijskim postupcima. Prednost ovog sustava je veća preciznost smještaja katetera u prostoru, tako da ga se češće koristi kod kompleksnijih aritmija, odnosno dužeg trajanja postupka kako bi se smanjili pomaci slike i distorzije koje mogu s vremenom nastati kod sustava temeljenih na impedanciji.

ZAKLJUČAK

Godišnje se u Hrvatskoj napravi > 2000 elektrofizioloških postupaka kod svih dobnih skupina, a u Europi skoro 300000 (17). Kod djece se u Hrvatskoj 2024. godine učinilo nešto više od 100 elektrofizioloških postupaka.

Ovakvim načinom liječenja postiže se trajno izlječenje aritmije što je najveća prednost ove metode u odnosu na jedinu drugu opciju, a to je medikamentozno liječenje. Ne postoji lijek koji može definitivno zbrinuti neku aritmiju, već se njegov učinak vidi jedino dok ga osoba redovito uzima. Budući da je potrebno dugogodišnje uzimanje lijekova koji imaju svoje nezanemarive nuspojave, jasno je zašto se elektrofiziologija, unatoč svojim rizicima, sve više i više koristi i to kao prva razina liječenja.

LITERATURA

1. Clausen H, Theophilos T, Jachno K, Babl F. Arrhythmias of children in the emergency department: incidence, management and outcome. Arch Dis Child. 2010;95(Suppl 1): A42-A42. doi: 10.1136/adc.2009.172703.

2. Gilljam T, Jaeggi E, Gow RM. Neonatal supraventricular tachycardia: outcomes over a 27-year period at a single institution. *Acta Paediatr.* 2008;97(8):1035–9. doi: 10.1111/j.1651-2227.2008.00899.x.
3. Massin MM, Benatar A, Rondia G. Epidemiology and outcome of tachyarrhythmias in tertiary pediatric cardiac centers. *Cardiology.* 2008;111(3):191–6. doi: 10.1159/000112724.
4. Ghosh RM, Gates GJ, Walsh CA, Schiller MS, Pass RH, Ceresnak SR. The prevalence of arrhythmias, predictors for arrhythmias, and safety of exercise stress testing in children. *Pediatr Cardiol.* 2015;36(3):584–90. doi: 10.1007/s00246-015-1093-z.
5. Durrer D, Schoo L, Schuilenburg RM, Wellens HJ. The role of premature beats in the initiation and the termination of supraventricular tachycardia in the Wolff-Parkinson-White syndrome. *Circulation.* 1967;36(5):644–62. doi: 10.1161/01.CIR.36.5.644.
6. Wellens HJ. Value and limitations of programmed electrical stimulation of the heart in the study and treatment of tachycardias. *Circulation.* 1978;57(5):845–53. doi: 10.1161/01.CIR.57.5.845.
7. Olsson A, Darpö B, Bergfeldt L, Rosenqvist M. Frequency and long term follow up of valvar insufficiency caused by retrograde aortic radiofrequency catheter ablation procedures. *Heart.* 1999;81(3):292–6. doi: 10.1136/heart.81.3.292.
8. Clark J, Bockoven JR, Lane J, Patel CR, Smith G. Use of three-dimensional catheter guidance and trans-esophageal echocardiography to eliminate fluoroscopy in catheter ablation of left-sided accessory pathways. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2008;31(3):283–9. doi: 10.1111/j.1540-8159.2007.01019.x.
9. Bigelow AM, Smith G, Clark JM. Catheter ablation without fluoroscopy: current techniques and future direction. *J Atr Fibrillation.* 2014;6(6):1066. doi: 10.4022/jafib.1066.
10. Jan M, Žižek D, Rupar K, et al. Fluoroless catheter ablation of various right and left sided supra-ventricular tachycardias in children and adolescents. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2016;32(11):1609–16. doi: 10.1007/s10554-016-0997-7.
11. Miyamoto K, Kapa S, Mulpuru SK, et al. Outcome of combined cryo- and radiofrequency-catheter ablation in patients with supraventricular tachycardias. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2019;30(10):1960–6. doi: 10.1111/jce.14127.
12. Nakagawa H, Ikeda A, Yokoyama K, et al. Improvement in lesion formation with radiofrequency energy and utilization of alternate energy sources (cryoablation and pulsed field ablation) for ventricular arrhythmia ablation. *Card Electrophysiol Clin.* 2022;14(4):757–67. doi: 10.1016/j.ccep.2022.08.004.
13. Noten AME, Kammeraad JAE, Ramdat Misier NL, et al. Remote magnetic navigation shows superior long-term outcomes in pediatric atrioventricular (nodal) tachycardia ablation compared to manual radiofrequency and cryoablation. *Int J Cardiol Heart Vasc.* 2021;37:100881. doi: 10.1016/j.ijcha.2021.100881.
14. Katritsis DG. Catheter ablation of atrioventricular nodal re-entrant tachycardia: facts and fiction. *Arrhythm Electrophysiol Rev.* 2018;7(4):230. doi: 10.15420/aer.2018.21.
15. Joseph JP, Rajappan K. Radiofrequency ablation of cardiac arrhythmias: past, present and future. *QJM.* 2012;105(4):303–14. doi: 10.1093/qjmed/hcr202.
16. Del Carpio Munoz F, Buescher TL, Asirvatham SJ. Three-dimensional mapping of cardiac arrhythmias: what do the colors really mean? *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2010;3(6):e6–11. doi: 10.1161/CIRCEP.110.957218.
17. Raatikainen MJP, Arnar DO, Merkely B, et al. A decade of information on the use of cardiac implantable electronic devices and interventional electrophysiological procedures in the European Society of Cardiology countries: 2017 report from the European Heart Rhythm Association. *Europace.* 2017;19(suppl_2):ii1–90. doi: 10.1093/europace/eux133.

Adresa za dopisivanje:

Prim. dr. sc. **Nikola Krmek**, dr. med.
 Klinika za pedijatriju, KBC Sestre milosrdnice
 Vinogradska cesta 29, 10000 Zagreb
 E-mail: nikola.krmek@kbcsm.hr

SUMMARY

Pediatric electrophysiology

Nikola Krmek

Electrophysiology has emerged as an important diagnostic and therapeutic method in the last three decades, often the first choice in the treatment of arrhythmias. In this procedure, catheter electrodes are used to enter the heart through central veins or arteries to determine the exact arrhythmogenic substrate and often to interrupt its activity by ablation.

The greatest step forward in reducing the amount of ionizing radiation in these procedures was the introduction of 3D mapping systems. These systems allow for the spatial placement of the catheter and the creation of a map of the heart's anatomy and electrical activity. The intracardiac electrogram is saved and the activation time can be compared with a reference point. It allows for the creation of an activation map that shows the way the signal propagates through the heart, which increases the precision of the work compared to procedures performed exclusively using X-ray radiation. This significantly reduces the patient's radiation exposure, which is especially important in childhood.

In Croatia, more than 2000 electrophysiological procedures are performed annually in all age groups, and almost 300.000 in Europe. In children, there were slightly more than 100 electrophysiological procedures performed in 2024. in our country.

This method of treatment achieves a permanent cure for arrhythmia, which is its greatest advantage compared to the only other option, drug treatment. While the effects of drugs are seen when patients take them regularly, there are no drugs that can definitively cure an arrhythmia. Since long-term use of drugs that have significant side effects is required, it is clear why electrophysiology, despite its risks, is increasingly used as the first line of treatment.

Key words: ELECTROPHYSIOLOGY; HEART; CHILD; ARRHYTHMIAS, CARDIAC

Dijagnoza i konvencionalno liječenje supraventrikularne tahikardije u djece

Davor Petrović^{1,2}

Supraventrikularna tahikardija je neprikladno ubrzan rad srca koji nastaje iz ili iznad atrioventrikularnog čvora. Jedna je od najčešćih aritmija u pedijatrijskoj populaciji. Postoji više vrsta SVT, ali u užem smislu riječi najčešće se misli na skupinu kružnih aritmija kao što su atrioventrikularna kružna tahikardija i atrioventrikularna nodalna kružna tahikardija. Supraventrikularna tahikardija se najčešće manifestira kao paroksizam, odnosno nastaje i prestaje naglo, uz dominiranje simptoma palpitacija, bolova u prsištu, blijedila. U manje djece dominiraju simptomi blijedila, nemira, plačljivosti, iritabilnosti i odbijanja obroka te tada često ostane neprimijećena što dovodi do razvoja srčanog zatajenja. Dijagnoza se postavlja na temelju elektrokardiografskog zapisa. Liječenje supraventrikularne tahikardije se bazira na akutnom zbrinjavanju i prevenciji aritmije. U današnje vrijeme u djece se supraventrikularna tahikardija uspješno liječi i ima jako nisku smrtnost.

Ključne riječi: TAHIKARDIJA, SUPRAVENTRIKULARNA; ARITMIJE, SRČANE; SREDSTVA PROTIV ARITMIJE; DIJETE

UVOD

Tahikardije su najčešće aritmije u pedijatrijskoj dobi, a među njima najčešća je supraventrikularna tahikardija (SVT) (1). SVT se definira kao abnormalno ubrzan srčani ritam koji nastaje iz ili iznad atrioventrikularnog čvora (AV čvora) i Hisovog snopa. Kod SVT QRS kompleks je najčešće sužen međutim ne uvijek (2, 3). Dvije osnovne vrste SVT su atrioventrikularna kružna tahikardija (AVRT) uključujući Wolf-Parkinson-White sindrom (WPW) i atrioventrikularna nodalna kružna tahikardija (AVNRT). U SVT se ubrajaju još i neprikladna sinus tahikardija, ektopična atrijska tahikardija, funkcionalna tahikardija, undulacija atrijske fibrilacije i druge (2). U ovom članku bazirat ćemo se na AVRT i AVNRT kao najčešće SVT u djece.

EPIDEMIOLOGIJA

Prevalencija SVT se u djece kreće oko 0.1-0.4 %, dok je u djece sa strukturnom srčanom greškom viša, oko 7 % (2, 4). Incidencija SVT u djece je oko 13/100 000. Najčešće je sporadična, ali postoji učestalost 5.5-7 % u rodbine prvog koljena (1, 5). U podvrstama SVT najveća učestalost je AVRT i AVNRT ali ista varira ovisno o dobi djeteta. Generalno u pedijatrijskoj dobi učestalost AVRT je oko 70 %, AVNRT oko 10 %, dok je učestalost ostalih SVT do 20 %.

U neonatalnoj i dojenačkoj dobi učestalost AVRT je viša od 80 %, dok je u starije djece oko 50-60 %. Oprečno tome AVNRT je rijetka u djece <2 godine života, dok u starije djece čini 20-35 % SVT (2, 6, 7).

¹ Klinički bolnički centar Split, Spinčićeva 1, 21000 Split

² Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Šoltanska 2a, 21000 Split

MEHANIZAM NASTANKA

Preeksitacija je ranija aktivacija klijetki putem akcesornog puta čime se zaobilazi provođenje kroz AV čvor. Ista se u elektrokardiogramu (EKG) prikazuje sa skraćenim PR intervalom i delta valom (usporeni uzlazni krak R vala). To se naziva WPW obrazac u EKG-u. Učestalost preeksitacije u generalnoj populaciji je 0.1-0.25 % (2, 8). Akcesorni put (AP) najčešće ima karakteristike dvosmjernog provođenja (60-75 %), ali neki AP-i mogu provoditi samo retrogradno (17-37 %) (9). Retrogradni AP provodi samo iz smjera klijetki prema pretklijetkama i ne stvara znakove preeksitacije u EKG-u ali svejedno može generirati epizode SVT. U najmanjem broju slučajeva AP može provoditi samo anterogradno (5-27 %) (8). Treba također razlikovati terminologiju WPW obrasca i WPW sindroma. WPW obrazac je ranije opisan u tekstu, dok je WPW sindrom odnosi na pacijente koji imaju WPW obrazac u EKG-u i manifestne SVT koje uključuju AP (8).

Da bi nastala kružna aritmija potrebno je imati dva puta kojim se može provoditi električni impuls između klijetki i pretklijetki. U AVRT ta dva puta su AP i AV čvor koji stvaraju kružni put. Ovisno kojim se smjerom provodi impuls kroz dva puta AVRT može biti ortodromna i antidromna (2). U ortodromnoj tahikardiji antegradna kondukcija impulsa ide preko AV čvora, a retrogradna putem AP-a te je QRS kompleks posljedično uzak. Kod antidromne koja je rjeđa (<5 %) kondukcija je obrnuta i time je QRS kompleks širok (1).

U pacijenata s AP koji ima sposobnost brze anterogradne kondukcije posebno je ugrožavajuće stanje kada se razvije atrijska fibrilacija (AF). AF putem brzoprovodnog AP-a može inducirati ventrikularnu fibrilaciju i posljedičnu iznenadnu srčanu smrt (1). Godišnji rizik iznenadne smrti u WPW pacijenata je 0.25 %, dok je cjeloživotni 3-4 % (10). Čak 10 % pacijenata s asimptomatskim WPW obrascem mogu imati kratkotrajne preeksitirane AF s minimalnim simptomima (11).

AVNRT nastaje zbog kružnog puta odnosno petlje koja nastaje unutar AV čvora. Krug najčešće uključuje dva puta, koji se zovu „spori“ i „brzi“ zbog njihovih razlika u brzini kondukcije i duljini refraktornog perioda. U češćoj, tipičnoj AVNRT anterogradna kondukcija ide putem sporog puta, a

retrogradna putem brzog puta. Posljedično kontrakcije klijetki i pretklijetki nastaju skoro istovremeno što stvara tahikardiju s vrlo kratkim RP intervalom u EKG-u (<70 ms). Kod atipične kondukcija je obrnuta što stvara dug RP interval što može sličiti drugim tahikardijama kao fokalnoj atrijskoj tahikardiji ili trajnoj spojnoj recipročnoj tahikardiji (PJRT) (1). Postoji šansa da se AVNRT stvori i kada ne postoji dualni provodni sustav u AV čvoru. Smatra se da tada jedan od krakova kružne petlje čini atrijsko mišićno tkivo koje se nalazi nekoliko milimetara iznad kompaktne zone AV čvora (12).

PJRT je varijanta ortodromne AVRT koja nastaje zbog skrivenog AP koji je lokaliziran u posteroseptalnoj regiji srca. Taj AP ima karakteristike sporog, dekrementnog provođenja što u kombinaciji sa sporim provođenjem kroz AV čvor stvara jako stabilnu petlju za električni impuls. Radi toga PJRT je incesantna aritmija koja često zna razviti tahikardijom induciranu kardiomiopatiju (1, 2).

KLINIČKA SLIKA

U novorođenčadi i dojenčadi simptomi SVT su blijedilo, nemir, plačljivost, iritabilnost, odbijanje obroka i cijanoza. Kako su simptomi često slabo izraženi, SVT u dojenčadi može dovesti do razvoja srčanog zatajenja i time simptoma u vidu profuznog znojenja, tahidispneje, nenapredovanja na tjelesnoj masi. Srčano zatajenje nastaje kada SVT traje >48 h, a kada traje <24 h nastaje iznimno rijetko. U čak 20 % slučajeva SVT se dijagnosticira slučajno za vrijeme rutinskog sistematskog pregleda. Kod starije djece i adolescenata SVT se manifestira palpitacijama, bolovima u prsištu i abdomenu, bljedilom, vrtoglavicom, omaglicom i rijetko sinkopom (1, 2, 6). Sinkopa je povezana s malignim verzijama SVT kao što je AF s malignim AP. SVT je najčešće paroksizmalne prirode odnosno nastaje i prestaje naglo pa se zato u literaturi često spominje kao paroksizmalna supraventrikularna tahikardija (PSVT). Srčana frekvencija u SVT varira između 220-280/min u novorođenčadi i dojenčadi, a između 180-240/min u starije djece i adolescenata.

RAZVOJ I TIJEK SVT

U djece mlađe od godinu dana tijek SVT je dosta različit od tijeka u starije djece. SVT nastaje u no-

orođenačkoj i dojenačkoj dobi u 50-70 % slučajeva, ali postoji šansa od 30-50 % da će nestati spontano nakon 18 mjeseci života (6, 13). U slučaju da je SVT dijagnosticirana u fetalnom razdoblju ili nakon >60 dana života ili ako je potrebna terapija SVT s više antiaritmika šansa rekurencije je signifikantno veća. Najveći prediktor rizika za ponavljanje je WPW obrazac u EKG-u. Djeca kojima je dijagnosticirana SVT prije 60 dana života i nemaju WPW obrazac u EKG-u smatraju se nisko rizičnima, te kod njih u 90 % slučajeva SVT se ne ponovi do 1 godine života, a u onih koji su još i liječeni antiaritmikima u 95 % slučajeva SVT se ne ponovi nakon prekidanja terapije (14). Nove smjernice savjetuju praćenje niskorizične dojenčadi do 1. godine života, dok visokorizične do 2. godine života (15). U starije djece od 5 godina života SVT se javlja rjeđe ali isto tako ima veću šansu rekurencije (1, 2). Većina se djece sa SVT potpuno oporave, a rizik smrtnosti je jako nizak (16).

POSTAVLJANJE DIJAGNOZE SVT

Pravovremena dijagnoza SVT ovisi o kvalitetno uzetoj anamnezi, kliničkom pregledu i EKG zapisu. Anamnestički kod starije djece potrebno je detaljno ispitati učestalost, trajanje i karakteristike tahikardije. Neprikladne tahikardije nepoznatog uzroka, koje traju oko 10-15 minuta (ali i do 2 sata), jako visoke srčane frekvencije (>220/min u dojenčeta i >180/min u starijeg djeteta), nastaju i prestaju naglo te su praćene ranije opisanim simptomima trebaju upućivati liječnika na SVT.

Pri kliničkom pregledu potrebno je imati posebni oprez kod pacijenata koji imaju znakove hemodinamske nestabilnosti, šoka i srčanog zatajenja, kod onih koji su imali sinkopu i kod onih koji imaju incesantne tahikardije. Te pacijente je potrebno uputiti u tercijarnu zdravstvenu ustanovu gdje će ih pregledati pedijatrijski kardiolog (2).

Dvanaestokanalni EKG je primarno oruđe za dijagnozu SVT. U većini slučajeva SVT se u EKG-u prikazuje kao pravilna tahikardija uskih QRS kompleksa (QRS <120msec). Međutim SVT može izgledati kao tahikardija širokih QRS kompleksa u EKG-u npr. zbog postojanja bloka grane, aberantnog provođenja ili kod antidromne AVRT (1). Ortodromna AVRT i AVNRT čine 80 % SVT u pedi-

jatrijskoj dobi. Njihovo razlikovanje u EKG-u neiskusnom liječniku može predstavljati problem. U slučaju da se ne uočava P val ili da je P val iza QRS kompleksa (pseudo R u V1, pseudo S u donjim odvodima) s RP intervalom <100 ms (pogotovo ako je manji od 70 ms), vjerojatno se radi o AVNRT. U slučaju da je RP interval >100 ms i ako postoje smetnje repolarizacije (negativni T val, depresija ST spojnice) vjerojatnije se radi o AVRT.

Jako je bitno kod pacijenata sa SVT pažljivo interpretirati EKG kada je pacijent u sinus ritmu. U većini slučajeva EKG je tada uredan, međutim u nekih pacijenata može biti znakova preeksitacije odnosno WPW obrazac (skraćeni PR interval i delta val). Postojanje preeksitacije uvelike mijenja daljnje liječenje i praćenje pacijenata sa SVT-om (1, 2, 14, 15).

Kako u nekih pacijenata SVT traje kratko nije moguće pravovremeno učiniti EKG za vrijeme tahikardije. U tim slučajevima koristimo modalitete dugotrajnog snimanja EKG-a. Jedan od njih je ambulantni Holter EKG monitoring koji omogućuje kontinuirano snimanje EKG-a tijekom 1-2 dana. Kod pacijenata koji imaju rijetke SVT postoje opcije dugotrajnijeg snimanja poput „patch“ EKG monitora ili „event recordera“ (16). U zadnje vrijeme nova tehnologija pametnih satova omogućila je snimanje i pohranu jednodokanalnih EKG zapisa. Pacijenti jednostavno mogu sami sebi snimiti EKG kod nastanka simptoma. Studije su pokazale mogućnost kvalitetne diferencijacije SVT u čak 70 % bolesnika (17, 18).

U pacijenata koji imaju epizode neprikladne tahikardije pri tjelesnim naporima indicirano je učiniti test opterećenja (ergometrija). Ergometrija se također koristi za procjenu rizika malignosti AP-a, pogotovo u asimptomatskih pacijenata s WPW-om. U odraslih se jasno i naglo nestajanje preeksitacije u EKG-u uzimalo kao marker niskorizičnog AP. U sportaša se uvijek savjetuje učiniti EPS za stratifikaciju rizika (8, 20). Recentne studije su pokazale da čak 20 % pacijenata s intermitentnom preeksitacijom ima karakteristike malignog AP na EPS-u (efektivni refraktorni period <250 ms) (20). U djece neinvazivne metode stratifikacije rizika asimptomatskih preeksitacija su se pokazale nesigurne te se tim pacijentima savjetuje učiniti EPS (21).

Potrebno je spomenuti manje invazivnu opciju EPS odnosno transezofagealnu EPS (TEEPS). To je minimalno invazivna tehnika kojom se može kvalitetno procijeniti vrsta i rizik rekurencije SVT te se može koristiti i u djece tjelesne mase <4 kg (21, 22).

LIJEČENJE SVT

Liječenje pacijenata sa SVT možemo podijeliti na akutno zbrinjavanje odnosno prekidanje epizode SVT i prevenciju ponovnog nastajanja SVT (kronično zbrinjavanje). Kod akutnog zbrinjavanja bolesnika sa SVT potrebno je istovremeno učiniti procjenu hemodinamskog statusa i snimiti kvalitetan 12-kanalni ili 15-kanalni EKG (1).

U slučaju da je bolesnik ima SVT te je hemodinamski nestabilan potrebno je bez odgode učiniti sinkroniziranu elektrokardioverziju s 0.5–1 J/kg (može se povisiti i do 2 J/kg u slučaju da manje doze ne prekinu aritmiju). Dok se priprema bolesnik i defibrilator može se pokušati prekinuti aritmija s adenozinom i/ili manevrima vagalne stimulacije ali nikako odgađati elektrokardioverziju (1, 16, 24).

Kod hemodinamski stabilnog pacijenta s epizodom SVT postoji više opcija liječenja. Kao prva linija liječenja može se pokušati s vagalnim manevrima. Postoji više načina stimulacije vagusa čime se usporava provođenje kroz AV čvor i time prekida kružna aritmija. Kod novorođenčadi i dojenčadi se može pokušati s postavljanjem vrećice s ledom na lice 15–30 s, rektalna stimulacija toplomjerom, postavljanje nazogastrične sonde, položaj žabe, ali ne primjenjivati masažu karotidnog sinusa i pritisak na očne bulbose (1, 16, 24). Kod starije djece može se pokušati s čučanjem, stajem na glavi, forsiranim ekspirijem uz zatvoren glotis, puhanje u slamku ili špricu ili Valsalvinim manevrom. Standardni Valsalvin manevar uključuje da se pacijenta stavi u polusjedeći stav pod kutem od 45–90 stupnjeva. Pacijent tada forsirano puše u 10 mililitarsku špricu 15 sekundi s pokušajem pomicanja klipa. U modificiranom Valsalvinom manevru nakon puhanja u špricu pacijent se pogne u supinaciju s podignutim nogama na 45 stupnjeva i tako ga se drži 15 sekundi. Potom se pacijent vrati u polusjedeći stav da odmara 45 sekundi. Studije su pokazale veću uspješnost modificiranog (do 43 %) nad

standardnim Valsalvinim manevrom i ostalim metodama stimulacije vagusa (24, 25).

Prvi lijek izbora u slučaju SVT refraktorne na primjenu vagalnih manevara je adenzin. Adenzin ima jako kratko vrijeme poluraspada (2–5 s), brzo djelovanje i minimalne i kratkotrajne nuspojave. On usporava i kratkotrajno blokira AV kondukciju što rezultira prekidom SVT. Najčešće nuspojave adenozina su crvenilo, nelagoda u prsištu i dispneja, ali one traju vrlo kratko. Pokazao se kao vrlo siguran lijek, a potrebno je biti oprezan u bolesnika s hipotenzijom, znakovima srčanog zatajenja, sindromom produljenog QT intervala, atrijskim aritmijama i WPW-om (24, 26). Postoje dva načina primjene adenozina. Najčešće se započne s 0.1 mg/kg iv. (max 6 mg), a ako se SVT ne prekine nakon 2 minute opservacije daje se dupla doza (0.2 mg/kg; max 12 mg). Zadnja doza je 0.3 mg/kg. Početna doza u djece <1 godine života je 0.15 mg/kg. Druga mogućnost primjene adenozina je da se počne s dozom 0.05 mg/kg te ako se SVT ne prekine nakon 2 minute se doza povećava u inkrementima od 0.05 mg/kg svako 2 minute do prekida aritmije ili maksimalne doze 0.25–0.35 mg/kg (max 12 mg) (16, 24). Zbog jako kratkog vremena poluraspada adenozina važno je na kvalitetan način primijeniti lijek. Potrebno je imati dobar iv. pristup blizu centralne cirkulacije. Najčešće se koristi tehnika s dvije šprice (u jednoj fiziološka otopina, u drugoj pripremljena doza adenozina) i dvosmjerna ili trosmjerna valvula. Adenzin apliciramo u brzom bolusu kojeg odmah prati ispiranje s fiziološkom unutar 1–2 sekunde (16, 24). Uspješnost adenozina za prekidanje svih SVT je oko 75 %, dok je kod AVRT do 95 % uz ranu rekurenciju tahikardije u 25 % slučajeva (27). Za vrijeme promjene adenozina obavezno imati kontinuirano snimanje EKG-a kao i pripravan defibrilator.

U slučaju da je tahikardija refraktorna na adenzin potrebno je primijeniti drugu liniju lijekova. Potencijalne opcije su esmolol, digoksin, propafenon, flekainid, amiodaron, verapamil i prokainamid (nije dostupan u Hrvatskoj) (1, 13, 16, 24, 28). Svi navedeni lijekovi imaju prednosti i mane te je na ordinarijusu da procjeni koji će se od njih primijeniti. Svakako prije primjene druge linije lijekova preporuka je konzultirati pedijatrijskog kardiologa. Verapamil je zabranjeno primjenjivati u djece <1 godinu života zbog opasnosti nastanka hipo-

tenzije i kardiovaskularnog kolapsa. Također s oprezom ga primjenjivati u pacijenata s WPW sindromom zbog opasnosti nastanka ventrikulske fibrilacije i kod pacijenata s disfunkcijom klijetki. Njegova primjena u starije djece je u dozi od 0.1-0.3 mg/kg iv tijekom 2 minute (13, 16). Digoksin se najčešće ne koristi za akutno zbrinjavanje SVT zbog uskog terapijskog prozora, odgođenog djelovanja i teških nuspojava (29). Esmolol je brzo-djelujući betablokator koji se primjenjuje u sljedećim dozama: 100-500 µg/kg iv bolus potom kontinuirana infuzija 25-200 µg/kg/min (1, 16, 28). Kod primjene svih betablokatora pripaziti ima li pacijent opstruktivni bronhitis ili astmu jer mogu pogoršati opstrukciju, te ih treba izbjegavati u pacijenata s disfunkcijom klijetki. Amiodaron se može primijeniti prvo kao bolus 5 mg/kg iv tijekom 20-60 min (može se probati i drugi bolus do totalne doze 15 mg/kg), potom kontinuirano 5-15 µg/kg/min iv (10-15 mg/dan) (1, 16, 28). Kako je amiodaron „spor“ lijek s puno nuspojava te mu je potrebno više sati do uspješne konverzije u sinus ritam, najčešće se koristi za prekidanje SVT kao posljednja opcija (13). Flekainid i propafenon su lijekovi IC skupine i jako su uspješni kod liječenja SVT, pogotovo zato što smanjuju provođenje signala kroz AP. Kod primjene lijekova IC skupine u pacijenata potrebno je monitorirati EKG zapis i pratiti širenje QRS kompleksa. Očekivano proširenje 10-15 % upućuje na adekvatno doziranje, međutim u slučaju proširenja QRS-a >20-25 % potrebno je prepoloviti dozu i ponoviti EKG. U slučaju perzistiranja proširenog QRS-a terapiju prekinuti. Flekainid se zbog uskog terapijskog prozora, potrebe kontrole razine u plazmi i utjecaja mliječnih obroka na njegovu apsorpciju izbjegava primjenjivati u djece <1 godinu života (30). IC skupina antiaritmika bi se trebala izbjegavati u pacijenata s disfunkcijom klijetki (sniženom ejekcijskom frakcijom) i strukturnim bolestima srca (14). Flekainid se daje u dozi 1.5-2 mg/kg iv tijekom 5 minuta, a propafenon prvo kao bolus doza 0.2-2 mg/kg iv tijekom 2 sata potom kontinuirano 4-20 µg/kg/min iv (13, 31).

Kao dodatna opcija akutnog prekidanja SVT ostaje transezofagealni elektrostimulacija koja može biti od koristi uz dosad navedene mjere. Elektrostimulacijom atrijske se može prekinuti tahikardija i odrediti mehanizam nastanka aritmije. Njezino korištenje je limitirano zbog potrebe za kvalitetno

izučeni kadrom kao i specijaliziranom opremom (16, 23).

Pristup kroničnog zbrinjavanja SVT se dijeli na 3 opcije: kliničko praćenje uz preporuke o ponašanju uslijed nastanka nove tahikardije, uključivanje medikamentozne profilakse i elektrofiziološka studija s ablacijom.

Kod novorođenčadi i dojenčadi preporuka je uvesti medikamentoznu profilaksu. Prva linija lijekova profilakse su digoksin i betablokator (prvenstveno propranolol). Oni su iste učinkovitosti, ali liječenje digoksinom se u zadnje vrijeme napušta zbog njegovog uskog terapijskog prozora i veće šanse razvoja nuspojava nego kod betablokatora. Propranolol kao neselektivni betablokator je prvi izbor profilakse u djece <1 godinu, a njegovo doziranje je 2-5 mg/kg/dan podijeljeno u 3-4 doze. Doza digoksina je 8-10 µg/kg/dan u dvije doze (16, 24, 28, 32). Kao druga linija profilakse u novorođenčadi i dojenčadi opcije su: sotalol (klasa III antiaritmik + betablokator; početna doza 2 mg/kg/dan po. u 3 doze, podizati do 4 mg/kg/dan), propafenon (7-10 mg/kg/dan po. u 3 doze, podizati po 20-30 % do ciljane doze 10-15 mg/kg/dan), flekainid (izbjegavati u djece <1 godine), amiodaron (početna doza 10-20 mg/kg/dan u dvije doze 7-10 dana potom smanjiti na 5-10 mg/kg/dan jednom dnevno) (13, 28).

U starije djece od godine dana koji su imali samo jednu epizodu nekomplikirane SVT može se pokušati s pristupom praćenja. Ako pacijent ne ponovi SVT tijekom 24 sata potrebno ga je naučiti kako mjeriti frekvenciju pulsa te kako prekinuti SVT vagalnim manevrima. U slučaju daljnjeg ponavljanja SVT u djece <15 kg (ili 5 godina) potrebno je započeti medikamentoznu profilaksu. Prva linija u starije djece su najčešće dugodjelujući betablokatori kao atenolol (0.3-1.3 mg/kg/dan u jednoj dozi), metoprolol 0.5-6 mg/kg/dan u dvije doze dnevno ili bisoprolol (0.1-0.4 mg/kg/dan u jednoj dozi) (13, 31). Lijekovi druge linije su: kalcijski blokator verapamil (2-9 mg/kg/dan u 3 doze), sotalol (2-8 mg/kg/dan u 2 doze), propafenon (6-20 mg/kg/dan ili 150-600 mg/m²/dan u 3 doze), flekainid (1-7 mg/kg/dan u 2 doze), amiodaron (početna doza 10 mg/kg/dan u dvije doze 10 dana potom smanjiti na 5 mg/kg/dan jednom dnevno) (13, 31). U pacijenata s refraktornom SVT na primjenu navedenih lijekova može se koristiti kombinacija lije-

kova, međutim to zahtjeva konzultaciju pedijatrijskog kardiologa i intenzivnije praćenje pacijenta. Kombinacije koje se koriste ovise dosta o iskustvu ordinariusa i stavovima lokalnih ustanova gdje se pacijent liječi (16). Ako pacijent već uzima profilaksu i razvije epizodu SVT akutno zbrinjavanje iste se obavlja po ranije navedenom protokolu, a naknadnu korekciju medikamentozne profilakse treba učiniti pedijatrijski kardiolog.

Kod djece teže od 15 kg preporuka je učiniti EPS s ablacijom (13, 16). Detalji o EPS nisu u okviru ovog članka. Svakako kod ovih pacijenata razmotriti medikamentoznu profilaksu do obavljanja EPS.

ZAKLJUČAK

SVT je česta aritmija u pedijatrijskoj populaciji međutim uz kvalitetan pristup medicinskog osoblja, educirane roditelje i same pacijente može se adekvatno akutno zbrinuti i prevenirati. U današnje vrijeme u većine pacijenata sa strukturno zdravim srcem SVT bude zbrinuta prije nego pacijent postane punoljetan.

LITERATURA

1. Kafali HC, Ergul Y. Common Supraventricular and Ventricular Arrhythmias in Children. *Turk Arch Pediatr*. 2022 Sep 2;57(5):476-88. doi: 10.5152/turkarchpediatr.2022.22216
2. Dubin AM. Clinical features and diagnosis of supraventricular tachycardia (SVT) in children [Internet]. 2023. Available from: www.uptodate.com
3. Josephson ME, Wellens HJ. Differential diagnosis of supraventricular tachycardia. *Cardiol Clin*. 1990 Aug;8(3):411-42.
4. Tripathi A, Black GB, Park YMM, Jerrell JM. Factors Associated With the Occurrence and Treatment of Supraventricular Tachycardia in a Pediatric Congenital Heart Disease Cohort. *Pediatr Cardiol*. 2014 Feb;35(2):368-73.
5. Bibas L, Levi M, Essebag V. Diagnosis and management of supraventricular tachycardias. *Can Med Assoc J*. 2016 Dec 6;188(17-18):E466-73. doi: 10.1503/cmaj.150818
6. Ko JK, Deal BJ, Strasburger JF, Benson DW. Supraventricular tachycardia mechanisms and their age distribution in pediatric patients. *Am J Cardiol*. 1992 Apr;69(12):1028-32.
7. Weindling SN, Saul JP, Walsh EP. Efficacy and risks of medical therapy for supraventricular tachycardia in neonates and infants. *Am Heart J*. 1996 Jan;131(1):66-72.
8. Di Biase L, Walsh EP. Wolff-Parkinson-White syndrome: Anatomy, epidemiology, clinical manifestations, and diagnosis [Internet]. 2024. Available from: www.uptodate.com
9. Miller JM. Therapy of Wolff-Parkinson-White Syndrome and Concealed Bypass Tracts: Part I. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1996 Jan;7(1):85-93. doi: 10.1111/j.1540-8167.1996.tb00423.x
10. Cohen MI, Triedman JK, Cannon BC, et al. PACES/HRS Expert Consensus Statement on the Management of the Asymptomatic Young Patient with a Wolff-Parkinson-White (WPW, Ventricular Preexcitation) Electrocardiographic Pattern. *Heart Rhythm*. 2012 Jun;9(6):1006-24. doi: 10.1016/j.hrthm.2012.03.002
11. Santinelli V, Radinovic A, Manguso F, et al. The Natural History of Asymptomatic Ventricular Pre-Excitation. *J Am Coll Cardiol*. 2009 Jan;53(3):275-80. doi: 10.1016/j.jacc.2008.08.037
12. Silka MJ, Kron J, Halperin BD, McANULTY JH. Mechanisms of AV Node Reentrant Tachycardia in Young Patients With and Without Dual AV Node Physiology. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1994 Nov;17(11):2129-33.
13. Brugada J, Blom N, Sarquella-Brugada G, et al. Pharmacological and non-pharmacological therapy for arrhythmias in the pediatric population: EHRA and AEPC-Arrhythmia Working Group joint consensus statement. *EP Eur*. 2013 Sep;15(9):1337-82. doi: 10.1093/europace/eut204
14. Moore JA, Stephens SB, Kertesz NJ, et al. Clinical Predictors of Recurrent Supraventricular Tachycardia in Infancy. *J Am Coll Cardiol*. 2022 Sep;80(12):1159-72. doi: 10.1016/j.jacc.2022.06.040
15. Kanter RJ. Care of the Infant With Supraventricular Tachycardia. *J Am Coll Cardiol*. 2022 Sep;80(12):1173-6. doi: 10.1016/j.jacc.2022.06.041
16. Dubin AM. Management of supraventricular tachycardia (SVT) in children [Internet]. 2023. Available from: www.uptodate.com
17. Bolourchi M, Batra AS. Diagnostic Yield of Patch Ambulatory Electrocardiogram Monitoring in Children (from a National Registry). *Am J Cardiol*. 2015 Mar;115(5):630-4. doi: 10.1016/j.amjcard.2014.11.040
18. Ferdman DJ, Liberman L, Silver ES. A Smartphone Application to Diagnose the Mechanism of Pediatric Supraventricular Tachycardia. *Pediatr Cardiol*. 2015 Oct;36(7):1452-7. doi: 10.1007/s00246-015-1155-6
19. Nguyen HH, Van Hare GF, Rudokas M, Bowman T, Silva JNA. SPEAR Trial: Smartphone Pediatric ElectroCARDiogram Trial. Hund T, editor. *PLOS ONE*. 2015 Aug 21; 10(8):e0136256. doi: 10.1371/journal.pone.0136256
20. Gaita F, Giustetto C, Riccardi R, Mangiardi L, Brusca A. Stress and pharmacologic tests as methods to identify patients with Wolff-Parkinson-White syndrome at risk of sudden death. *Am J Cardiol*. 1989 Sep;64(8):487-90.
21. Brugada J, Katritsis DG, Arbelo E, et al. 2019 ESC Guidelines for the management of patients with supraventricular

- lar tachycardia: The Task Force for the management of patients with supraventricular tachycardia of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 2020 Feb 1;41(5):655-720. doi: 10.1093/eurheartj/ehz486
22. Yammine ML, Tamborrino PP, Flore F, et al. Intermittent ventricular preexcitation in children: not always a low-risk condition. Europace. 2024 Oct 3;26(10):euae250. doi: 10.1093/europace/euaa250
 23. Manickavasagam A, Patloori SCS, Perla HT, Chase D, Roshan J. Impact of transesophageal electrophysiological study on midterm management of pediatric tachyarrhythmias. Ann Pediatr Cardiol. 2022 Sep;15(5 & 6):453-8.
 24. Abbasi E, Vijayashankar SS, Goldman RD. Management of acute supraventricular tachycardia in children. Can Fam Physician. 2023 Dec;69(12):839-41.
 25. Lu Z, Zhu J, Gao M, et al. Efficacy and safety of modified Valsalva maneuver for treatment of paroxysmal supraventricular tachycardia: a meta-analysis. J Int Med Res. 2024 Jan;52(1):3000605231220871. doi: 10.1177/03057310231220871
 26. Mullen JC, Waskiewich K, Bhargava R, Bentley MJ. Bilateral partial anomalous pulmonary venous return. Can J Cardiol. 1997 Jun;13(6):567-9.
 27. Sherwood M, Lau K, Sholler G. Adenosine in the management of supraventricular tachycardia in children. J Paediatr Child Health. 1998 Feb;34(1):53-6.
 28. Srinivasan C, Balaji S. Neonatal supraventricular tachycardia. Indian Pacing Electrophysiol J. 2019 Nov;19(6):222-31.
 29. Kugler JD, Danford DA. Management of infants, children, and adolescents with paroxysmal supraventricular tachycardia. J Pediatr. 1996 Sep;129(3):324-38.
 30. Basza M, Maciejewski C, Bojanowicz W, et al. Flecainide in clinical practice. Cardiol J. 2023;30(3):473-82. doi: 10.5603/CJ.a2022.0159
 31. Oeffl N, Schober L, Faudon P, et al. Antiarrhythmic Drug Dosing in Children-Review of the Literature. Child Basel Switz. 2023 May 8;10(5):847. doi: 10.3390/children10050847
 32. Wei N, Lamba A, Franciosi S, et al. Medical Management of Infants With Supraventricular Tachycardia: Results From a Registry and Review of the Literature. CJC Pediatr Congenit Heart Dis. 2022 Feb;1(1):11-22. doi: 10.1016/j.cjped.2022.01.003

Autor za dopisivanje:

Dr. sc. **Davor Petrović**, dr. med.
Klinički bolnički centar Split
Spinčićeva 1, 21000 Split
e-mail: davorpetrovic85@gmail.com

S U M M A R Y

Diagnosis and conventional treatment of supraventricular tachycardia in children

Davor Petrović

Supraventricular tachycardia (SVT) is an inappropriately rapid heart rhythm generated above the atrioventricular node. It is one of the most common tachycardias in children. There are several types of SVT, but it most commonly refers to a group of reentrant arrhythmias, such as atrioventricular reentrant tachycardia (AVRT) and atrioventricular nodal reentrant tachycardia (AVNRT). Supraventricular tachycardia typically presents as paroxysms, meaning it starts and stops suddenly, with symptoms such as palpitations, chest pain, and pallor. In younger children, symptoms like pallor, restlessness, excessive crying, irritability, and refusal to eat may predominate, often going unnoticed, which can lead to the development of heart failure. The diagnosis is made based on an electrocardiogram (ECG). Treatment of SVT involves acute management and prevention of arrhythmia. Nowadays, SVT in children is successfully treated and has a very low mortality rate.

Keywords: TACHYCARDIA, SUPRAVENTRICULAR; ARRHYTHMIAS, CARDIAC; ANTI-ARRHYTHMIA AGENTS; CHILD

Miokarditis i perikarditis u dječjoj dobi

Sanja Dorner*

Miokarditis je upalna bolest srednjeg, mišićnog dijela srca kod koje uslijed upale srčanih stanica dolazi do njihovog privremenog ili trajnog oštećenja s posljedičnim gubitkom funkcije, a što se klinički prezentira srčanim zatajenjem i/ili aritmijom. Smatra se rijetkom bolesti premda se stvarna incidencija ne zna jer se većina slučajeva koji imaju blažu kliničku sliku ne prepozna. Klinička prezentacija je vrlo raznolika, od vrlo blagih, asimptomatskih slučajeva do srčanog zatajenja. Dijagnoza se temelji na anamnezi i kliničkoj slici, nalazu povišenih upalnih i srčanih biomarkera u serumu i slikovnim pretragama gdje ključne uloge imaju ultrazvučni pregled srca i magnetska rezonanca srca. Terapijski pristup ovisi o hemodinamskim poremećajima u pacijenta. Perikarditis je upala visceralne i parijetalne ovojnice perikarda i nije česta bolest u djece. Podatci o učestalosti bolesti u općoj populaciji su oskudni, smatra se da je incidencija bolesti 30-150/100 000 na godinu. Uzrok je boli u prsima u <0,2 do 5 % djece koja zbog toga dođu u hitni prijem, a da nemaju prethodnu bolest srca. Perikarditis se klinički može manifestirati kao akutni, rekurentni ili kronični. Liječi se nesteroidnim protuupalnim lijekovima, rekurentni kortikosteroidima i kolhicinom, a sve češće se kod rezistentnih oblika primjenjuje i biološka imunomodulatorna terapija.

Ključne riječi: MIOKARDITIS; DIJETE; PERIKARDITIS; ULTRAZVUK SRCA; MAGNETSKA REZONANCA

MIOKARDITIS

Miokarditis je upalna bolest srčanog mišića koja i uz sva nova postignuća u dijagnostici i liječenju predstavlja veliki izazov kliničarima kako u primjeni adekvatnih dijagnostičkih metoda, tako i u izboru terapije, a poslije preboljenja u načinu praćenja posljedica. Smatra se rijetkom bolesti premda se stvarna incidencija ne zna jer se većina slučajeva koji imaju blažu kliničku sliku ne prepozna. Na temelju rezultata nekoliko objavljenih istraživanja procjenjuje se da je incidencija između 0,80 i 2,13 slučajeva na 100 000 s predominacijom muškog spola među oboljelima (1-3). Bolest je prepoznata i kao jedan od uzroka iznenadne smrti u djece i sportaša, prema nalazu obdukcije u čak 12 % slučajeva (1, 3-7). Od pojave pandemije SARS-CoV-2 ponovno je više u središtu pozornosti jer su pre-

poznata dva nova uzroka upale miokarda, sam koronavirus CoV-2, ali i mRNA cjepivo protiv njega.

Definicija

Miokarditis je upalna bolest srednjeg, mišićnog dijela srca kod koje uslijed upale srčanih stanica dolazi do njihovog privremenog ili trajnog oštećenja s posljedičnim gubitkom funkcije, a što se klinički prezentira srčanim zatajenjem i/ili aritmijom (1). Patohistološki nalaz upalne kardiomiopatije je potreban, prema toj definiciji, za potvrdu bolesti. U novije doba se biopsija miokarda rjeđe izvodi te se kliničari za postavljanje dijagnoze oslanjaju na manje invazivnu metodu kao što je magnetska rezonanca srca u kombinaciji s kliničkom slikom i laboratorijskim pretragama. Na temelju novih spoznaja u dijagnostici i liječenju,

* Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Osijek, Josipa Huttlera 4, 31000 Osijek

Tablica 1. Mogući uzročnici miokarditisa

Uzroci miokarditisa					
Infektivni uzročnici			Neinfektivni uzročnici		
Virusi Coxsackiae virus A i B, Adenovirus, CMV, Echovirus, Parvovirus B19, EBV, Hepatitis B i C virus, Herpes virus, HIV, Influenza, Parainfluenza, Morbili, Varicella Zoster virus, Coronavirusi, Virus parotitisa	Bakterije Mycobacterium, Streptococci, Mycoplasma, Legionella spp, Salmonella spp, Corynebacteria, Borrelia spp	Gljive Apergillus, Blastomyces, Candida, Cryptococcus, Histoplasma, Mucor	Paraziti Entamoeba histolytica, Cysticercus, Echinococcus, Trihinela, Trypanosoma cruzi, Toxoplasma gondii, Plasmodium	Hipersenzitivni/ Autoimuni Postinfektivni, Čjepiva protiv influence, Sistemni lupus eritematosus, Sarkoidoza, Sjogrenov sindrom, Churg Strauss sindrom, Upalne bolesti crijeva, Miokarditis gigantskih stanica	Kardiotoksini Antraciklini, Katekolamini, Citokini, Antibiotici, Klorzapin, Penicilini, Tiazidski diuretici, Alkohol, Arsen

Američko udruženje za srce (AHA, engl. *American Heart Association*) 2021. godine je objavilo smjernice za postavljanje dijagnoze i liječenje miokarditisa u djece. U ovim smjernicama je priznata vrijednost pozitivnog nalaza magnetske rezonance srca za potvrdu dijagnoze miokarditisa (1).

Etiologija

Najčešći uzročnici miokarditisa u dječjoj dobi su virusi i to parvovirus 19 i humani herpes virus 6, drugi infektivni uzročnici su rjeđi (1). Drugi mogući uzročnici upale su autoimuna bolest, lijekovi, reakcije preosjetljivosti i toksini (Tablica 1.) (1, 7).

Autoimuni miokarditis često se javlja s perikarditisom i sistemnom upalom. U djece sa sistemskim lupusom njih 10,8 % se prezentira s miokarditisom, perikarditisom ili s oboje. Miokarditis velikih stanica, rijedak u djece je također vjerojatno posljedica autoimune reakcije, često je fulminantnog tijeka sa smrtnim ishodom ako se ne prepozna (8). Hipersenzitivni miokarditis kojeg karakterizira nalaz eozinofilne infiltracije miokarda u biopsiji najčešće je uzrokovan nekim lijekovima ali može nastati i uslijed djelovanja toksina, infekcije ili maligne bolesti. Od lijekova najčešće se radi o antibioticima ili lijekovima s djelovanjem na središnji živčani sustav, ali mnogi drugi lijekovi mogu pokrenuti imunološki odgovor (9). Inhibitori kontrolnih točaka čija je primjena u porastu u liječenju malignih bolesti povezana je s pojavom miokarditisa u odraslih (10).

Patofiziologija

Patogeneza miokarditisa ovisi o specifičnom uzročniku. Virus mogu ući u kardiomiocite, endotelne stanice i stanice strome s pomoću receptora specifičnih za virus. Receptori za coxsackie i adeno-

viruse su u velikom broju prisutni u srcu, naročito u dječjoj dobi. Kada virus uđe u stanicu uzrokuje njenu smrt što pokreće imunološki odgovor koji uključuje aktivaciju i oslobađanje niza upalnih stanica i medijatora upale kao što su faktor tumorske nekroze- α , interleukin-1 β , interleukin-6 i dušikov oksid. Upalni medijatori iz srca aktiviraju koštanu srž koja oslobađa neutrofile i monocite. Monociti su glavni tip stanica koji se infiltrira u srce tijekom miokarditisa. Prema spoznajama iz mišjih modela miokarditisa upalni monociti fenotip Ly6Chi pokreću oštećenje srca tijekom miokarditisa, dok se fenotip Ly6Clo pokazao zaštitnim (11). Nekoliko dana nakon infekcije antigen specifični T i B limfociti uklanjaju virus ali istovremeno uzrokuju dodatno oštećenje kardiomiocita i fibrozu što u konačnici može rezultirati nastankom kardiomiopatije. CD8+ T limfociti su ključni za eliminaciju virusa, dok CD4+ T limfociti imaju značajnu ulogu u nastanku miokarditisa uzrokovanog Coxacki-virus B3 (CVB3) (12). Poznato je i da interleukin-17A potiče nastanak fibroze i dilatativne kardiomiopatije kroz aktivaciju srčanih fibroblasta te potiče dalju infiltraciju monocita u miokard (13). Limfociti B stvaraju specifična protutijela za određene viruse i djeluju kao antigen-prezentirajuće stanice aktivirane preko Toll-like receptora i kao takvi mogu biti cilj imunoterapije. Nakon što upala prođe srčane stanice se mogu oporaviti međutim može se i nastaviti prisutnost virusa u stanicama što uz upalu može imati za posljedicu neželjenu remodelaciju ventrikula i stanja koje znamo kao dilatativna kardiomiopatija.

Klinička slika i dijagnostika

Miokarditis se prezentira u nekoliko različitih kliničkih oblika.

Tablica 2. Najčešći simptomi miokarditisa i njihova učestalost

Anamneza (%)	Simptomi (%)	Klinički nalaz (%)
Simptomi viroze (41-69)	Umor (25-70)	Tahipneja (52-60)
Aritmije (11-45)	Zaduha (35-69)	Tahikardija (32-57)
Sinkopa (4-10)	Vrućica (31-58)	Hepatomegalija (21-50)
Iznenadna srčana smrt	Mučnina/povraćanje ili bolovi u trbuhu (24-48)	RDS (21-47)
	Rinoreja (38-44)	Šum na srcu (26)
	Bol u prsima (24-42)	Galopni ritam (20)
	Dispneja (22-25)	Oslabljeni pulsevi (16-21)
	Kašalj (17-44)	Edemi (7)
	Palpitacije (16)	Cijanoza (2)
	Proljev (8)	

Akutni miokarditis – tipična i najčešća klinička prezentacija sa slikom popuštanja lijeve klijetke i simptomima virusne infekcije u tjednima prije nastupanja popuštanja srca (14, 15).

Fulminantni miokarditis – prezentira se kardio-genim šokom i aritmijom te je često potrebno liječenje inotropima i mehaničkom potporom cirkulaciji (16).

Kronični perzistentni miokarditis – najčešći simptom je bol u prsima s često održanom sistoličkom funkcijom lijeve klijetke, u bioptatu se nalazi perzistentna upala miokarda (17).

Rekurentni miokarditis – karakteriziraju ga epizode akutnog miokarditisa između kojih se nalazi potpuna klinička rezolucija simptoma (18).

Premda se miokarditis često prezentira s vrlo raznolikom skupinom simptoma, čak u 2/3 slučajeva se u anamnezi nađe isti podatak o simptomima viroze koji su prethodili pojavi kardioloških simptoma (19). Povišena tjelesna temperatura je prisutna u više od polovice pacijenata, aritmije kao što su atrioventikularni blok i atrijske aritmije prisutne su u čak 45 % slučajeva. Sinkopa kao simptom se pojavljuje u oko 10 % slučajeva, nerijetko je iznenadna srčana smrt prvi simptom (6 %) prema podacima istraživanja u Sjedinjenim Američkim Državama (3) (Tablica 2.).

Laboratorijski nalazi

Kod sumnje na miokarditis, prve pretrage koje je potrebno učiniti su laboratorijske pretrage od kojih se očekuje potvrda bolesti srčanog mišića. Nažalost, dostupni biokemijski markeri nemaju dovoljnu specifičnost i niti jedan ne može potvrditi radi li se miokarditisu ili nekoj drugoj akutnoj

bolesti srca koja je uzrokovala oštećenje stanica miokarda. Najčešće primjenjivani biomarkeri su kreatin kinaza MB (CK MB) i troponini koji su svima dostupni. Troponini T i I su uglavnom povišeni u pacijenata s akutnim miokarditisom, nerijetko su značajno povišene vrijednosti u serumu (20). Međutim troponinu nedostaje specifičnost, ali i osjetljivost. Vrlo visoke vrijednosti troponina I u serumu ne koreliraju s težinom oštećenja funkcije srčane klijetke niti s učestalosti aritmije, ali ipak u tih pacijenata je znatno češće bilo potrebno primijeniti ECMO i veći je mortalitet (21, 22). Moždani natriuretski peptid tipa B (BNP) i NT-proBNP su često povišeni u početku bolesti i specifični su za popuštanje lijeve klijetke ali bilo kojeg uzroka, miokarditis je ovdje samo jedan od mogućih uzroka. Dakle niti ovaj biomarker nije specifičan za miokarditis (22). Unatoč tome što im nedostaje specifičnost, navedeni biomarkeri i njihovo višekratno mjerenje su jako korisni u praćenju tijekom bolesti te se najviše za to i koriste. Nespecifični serumski markeri upale kao što su broj leukocita, brzina sedimentacije i C-reaktivni protein, mogu biti povišeni u slučajevima akutnog miokarditisa ili sistemskog upalnog poremećaja, ali normalne vrijednosti ne isključuju akutni upalni proces miokarda (14). Određivanje specifičnih protutijela na viruse za koje znamo da često uzrokuju miokarditis se pokazalo nepouzdanom. Protutijelima tijekom infekcije treba vremena da se stvore, a vrlo često protutijela nađena u cirkulaciji su posljedica prošle infekcije koja nije povezana sa sadašnjom infekcijom miokarda. PCR se pokazao kao puno bolja metoda za dokazivanje prisutnosti virusa u bioptatu miokarda, ali i u određivanju virusa u perifernoj krvi, stolici ili sekretu dišnih puteva. No i ovdje treba biti oprezan jer je vrlo niska korelacija pozi-

tivnog nalaza u perifernim uzorcima s onim iz bi-optata.

Elektrokardiogram

Promjene koje se mogu vidjeti u elektrokardiogramu su različite i nespecifične. Najčešće se vidi sinusna tahikardija, promjene ST-T segmenta, inverzija T valova, ST elevacija, niska voltaža QRS kompleksa i produženje atrioventrikularnog provođenja. Ukoliko je miokarditis udružen s perikarditisom nerijetko se vidi produženje PR intervala i elevacija ST segmenta (23). Preporuka je da se u svim slučajevima novonastalog AV bloka 3. stupnja isključi postojanje miokarditisa (14). Nerijetko je nalaz ozbiljnije aritmije u EKG-u kao što su AV blok, ventrikulska tahikardija i fibrilacija, supraventrikulska tahikardija, fibrilacija ili undulacija atrijski prvi prezentirajući simptom miokarditisa (24).

Ultrazvuk srca

Transtorakalni ultrazvuk srca je široko dostupan, neinvazivan i brzo omogućuje uvid u srčanu strukturu i funkciju u realnom vremenu. Upravo zbog toga je slikovna dijagnostička metoda koja se prva primjenjuje. Jednako je važna metoda za daljnje praćenje bolesti ali i donošenje odluka o različitim metodama liječenja.

Najčešći nalazi koji se vide kod miokarditisa su:

1. manji ili značajni poremećaj globalne sistoličke funkcije lijeve ili desne klijetke, uključujući i regionalne promjene kontraktilnosti;
2. proširenje lijeve klijetke različitog stupnja;
3. zadebljanje srčanih stijenki uslijed edema;
4. perikardijalni izljev;
5. intrakardijalni trombi;
6. funkcionalne regurgitacije valvula (25).

Nalaz koji snažno sugerira miokarditis je različita težina disfunkcije lijeve klijetke uz zadebljanje stijenki. Međutim ovakav se nalaz može naći i u drugim bolestima, ne samo u miokarditisu tako da ipak i UZV srca ima svoje nedostatke u razlikovanju miokarditisa od drugih uzroka srčane disfunkcije. Nove metode ultrazvučnog pregleda srca se razvijaju i sve uspješnije primjenjuju u dijagnostici. Jedna od njih je tkivni Doppler i deformacija (engl. strain) miokarda koja pokazuje suptilne poremećaje u sistoličkoj i dijastoličkoj funkciji miokarda a

koji su prema do sada objavljenim rezultatima u korelaciji s nalazom biopsije i MR srca (26 - 28). Volumen lijeve klijetke na kraju dijastole i težina oštećenja sistoličke funkcije imaju prediktivnu vrijednost za ishod bolesti.

Magnetska rezonanca srca

Magnetska rezonanca srca je pretraga koja je donijela najveći napredak u dijagnostici miokarditisa i smanjenju potrebe za biopsijom miokarda kako bi se postavila dijagnoza. Metoda ima dobru osjetljivost (87,5 %) i specifičnost, neinvazivna je, te osim strukturnih promjena miokarda daje niz hemodinamskih podataka. Nedostatak su poteškoće sa suradnjom pacijenata dječje dobi - zadržavanje daha kada je to potrebno te potreba za sedacijom kod vrlo male djece, a problem je i brza srčana frekvencija u djece te davanje gandinijuma kao kontrasta. Ponekad je tehnički nemoguće životno ugroženom pacijentu ili pacijentu na mehaničkoj cirkulacijskoj potpori napraviti ovu pretragu. Unatoč tome magnetska rezonanca srca najbolje pokazuje upalnu leziju miokarda i omogućuje njeno razlikovanje od neupalnih kardiomiopatija. Osim karakterizacije tkivnih promjena MR srca je zlatni standard za kvantifikaciju volumena ventrikula, ejekcijske frakcije i mase ventrikula. Glavne kliničke oznake upale u miokardu na magnetskoj rezonanci srca su visoka gustoća signala T2 ponderirane slike, produženo vrijeme T2 i T1 kao oznaka količine ekstracelularne tekućine, zadebljanje miokarda uslijed edema te brzi ulazak gandinijuma uslijed hiperemije. Za dijagnozu miokarditisa magnetskom rezonancom upotrebljavaju se modificirani Lake Louise kriteriji. Za postavljanje dijagnoze potrebno je da su zadovoljena 2 kriterija. Glavni kriteriji su: edem miokarda (na T2 mapiranju ili na T2 mjerenim slikama) i neishemijska lezija miokarda (abnormalne vrijednosti T1, ECV ili LGE). Pomoćni kriteriji koji dodatno upućuju na miokarditis su perikarditis (perikardijalni izljev, povišen signal perikarda na LGE slikama, T1 mapama ili T2 mapama) i sistolička disfunkcija lijeve klijetke (globalni ili regionalni poremećaj kontraktiliteta). Pozitivna oba glavna kriterija povećavaju specifičnost pretrage, no moguće je postaviti dijagnozu i na temelju samo jednog zadovoljenog glavnog kriterija uz odgovarajuću kliničku sliku i laboratorijske nalaze. Parametri mapiranja u akutnom miokarditisu se razlikuju od

onih u kontrolnim snimanjima. Produžena T1 relaksacija je visokoosjetljiva za miokarditis. Prema objavljenim istraživanjima većina pacijenata je u akutnoj fazi imala povišen T2 omjer, rano nakupljanje gandolinijuma, produženo nativno T1 vrijeme relaksacije, produženo T2 vrijeme relaksacije i povećanu ECV frakciju. Svi se ovi parametri polako normaliziraju s vremenom, najbrže nestaje edem miokarda mjeren T2 mapiranjem a koji se povlači nakon 3 tjedna bolesti. T2 mapiranje najbolje pokazuje razliku između akutnog i kroničnog stadija miokarditisa. Podatci iz praćenja velike kohorte pedijatrijskih pacijenata pokazali su da je pozitivan T i LGE značajno češći nalaz u pacijenata koji se nisu u potpunosti oporavili od miokarditisa. Kasno nakupljanje gandolinijuma (LGE, engl. *late gadolinium enhancement*) je najizučavaniji prognostički parametar lošeg ishoda u pacijenata s miokarditisom. Nastaje kao posljedica produženog vremena potrebnog za izbacivanje kontrasta u ekstracelularni prostor u upaljenom dijelu miokarda. Može biti lokaliziran anteroseptalno ili posterolateralno, mjestimično vidljiv ili u epikardu. U odraslih ali i djece slabi oporavak, ventrikulske aritmije i smrtni ishod su povezani s distribucijom LGE u sredini stijenke i anteroseptalnom lokalizacijom naspram posterolateralne (29-31).

Biopsija miokarda

Biopsija miokarda je i dalje zlatni standard u postavljanju dijagnoze miokarditisa. Za histopatološku dijagnozu miokarditisa primjenjuju se Dallas kriteriji koji su prvi puta objavljeni 1986., a temelje se na prisutnosti upalnih stanica sa ili bez nekroze u bioptatu miokarda (32). U novije vrijeme pretraga je nadopunjena imunohistokemijskim metodama čime je povećana osjetljivost pretrage u dokazivanju upalnih stanica u miokardu. U slučajevima kada je to na temelju histologije dvojbeno povećana ekspresija HLA i markera upalnih stanica pomoći će u postavljanju dijagnoze (33). Unatoč tome biopsije se sve rjeđe izvode, naročito u djece i to iz više razloga (1). Riječ je o invazivnoj pretrazi koja kao takva ima niz ozbiljnih, životno ugrožavajućih komplikacija na već ionako teško bolesnim pacijentima (incidencija 6 %) (34). Samo uzimanje uzoraka može dati lažno negativne rezultate zbog fokalne raspodjele upalnih infiltrata u miokardu. Bioptira se uglavnom miokard desne klijetke, vrlo rijetko lijeve, a poznato je da se najranije upalne

promjene miokarda vide u lateralnom zidu lijeve klijetke gdje se vrlo rijetko uzima uzorak (35). Interpretacija rezultata među patolozima također je vrlo različita. Sve to dovelo je do toga da se biopsija miokarda sve rjeđe primjenjuje u dijagnostici miokarditisa, a sve više ju zamjenjuje magnetska rezonanca srca.

Postoje određene situacije kada je biopsija ipak obvezna (Klasa I preporuka): 1) naglo nastalo srčano zatajenje koje traje manje od 2 tjedna sa značajno kompromitiranom hemodinamikom neovisno o veličini lijeve klijetke; 2) naglo nastalo srčano zatajenje u trajanju od 2 tjedna do 3 mjeseca povezano s dilatacijom lijeve klijetke, ventrikularnim aritmijama, atroventrikularnim blokom i neadekvatnim odgovorom na terapiju nakon 1-2 tjedna liječenja (36).

Liječenje

Miokarditis se može različito klinički manifestirati, od kliničke slike blage viroze do brzo progredirajućeg srčanog zatajenja. Ponekad je vrijeme od pojave simptoma do pojave životno ugrožavajuće kompromitacije cirkulacije vrlo kratko. Zbog toga u liječenju treba biti spreman na sve scenarije i njihove brze promjene te je razumno dijete sa sumnjom na miokarditis u akutnoj fazi hospitalizirati i kontinuirano monitorirati srčani ritam uz praćenje ostalih hemodinamskih parametara. Djecu koja se od početka prezentiraju značajnim hemodinamskim pogoršanjem potrebno je na vrijeme uputiti u tercijarni centar gdje se može djetetu pružiti adekvatna terapija mehaničkom potporom ukoliko se za to ukaže potreba. U prvim danima bolesti naročito je važno na vrijeme uočiti i liječiti aritmije koje su u toj fazi bolesti česte i značajno kompromitiraju funkciju lijeve klijetke i pogoršavaju stanje pacijenta te kako su pokazala brojna istraživanja značajno su povezane s lošim ishodom bolesti. U liječenju se primjenjuju uobičajeni antiaritmici, a ponekad je potrebna i primjena privremene transvenske elektrostimulacije srca kod hemodinamski nestabilnih pacijenata (37). Suportivno liječenje miokarditisa se ne razlikuje od liječenja akutnog zatajenja srca. Smanjenje srčanog izbačaja treba promptno liječiti i u tu svrhu se pokazala najboljom primjena milrinona. Dopamin i adrenalin imaju za razliku od milrinona jači kronotropni i aritmogeni učinak te se primje-

njuju samo u slučaju hipotenzije i kardiogenog šoka (22). U trenutku kada pacijent postane hemodinamski stabilan može se prevesti na peroralnu primjenu lijekova čija je svrha spriječiti nepovoljan tzv. *remodeling* lijeve klijetke. Najčešće se primjenjuju diuretici za smanjenje venske kongestije, inhibitori angiotenzin II konvertaze ili blokatori angiotenzin II receptora te beta-blokatori. Pravovremena i brza primjena mehaničke potpore cirkulaciji spašava život i prema dostupnim podacima čak u 23 % slučajeva rane faze miokarditisa je bila potrebna. Mehanička potpora cirkulaciji uključuje ekstrakorporalnu membransku oksigenaciju (ECMO) i mehaničku potporu lijevoj klijetki (Impella, PediMag/CentriMag, Berlin Heart EXCOR). Naravno ova vrsta liječenja se provodi u centrima koji su iskusni s ovim metodama liječenja i u kojima postoji mogućnost transplantacijskog liječenja ukoliko izostane oporavak miokarda (38). Za sada još nema dovoljno podataka na temelju kojih bi se mogle dati čvrste, na dokazima temeljene preporuke za miokarditis specifičnu imunosupresivnu terapiju. Unatoč tome ona se u svijetu široko primjenjuje i to najčešće u akutno dekompenziranih pacijenata (39). Primjena nesteroidnih protuupalnih lijekova se pokazala djelotvorna u pacijenata kod koji uz miokarditis postoji i perikarditis s izljevom. Koliko je učinkovita na sami miokarditis još je nepoznato. Isto takvi su podaci i za primjenu kortikosteroida koji se unatoč tome ipak u većini centara primjenjuju. Pregled velike Cochrane baze podataka o provedenim istraživanjima o primjeni steroida pokazalo je da nema razlike u mortalitetu nakon primjene steroida u djece i odraslih ali da je ejekcijska frakcija lijeve klijetke bila bolja u pacijenata liječenih steroidima (40). Imajući na umu mehanizam nastanka miokarditisa logično je da će učinak imunosupresije kortikosteroidima biti najučinkovitiji na autoimunu fazu miokarditisa kada više nema aktivne virusne infekcije. Intravenski imunoglobulini (IVIG) se često primjenjuju u liječenju djece s miokarditisom, nemaju imunosupresivno djelovanje nego protuupalno, antivirusno i imunomodulatorno. Pokazalo se da kod miokarditisa primjena IVIG-a dovodi do brzog poboljšanja sistoličke funkcije lijeve klijetke. Međutim i ovdje nedostaju sistematizirana kontrolirana klinička istraživanja. Unatoč tome brojni pedijatrijski centri u liječenju miokarditisa primjenjuju kombinaciju IVIG-a i

kortikosteroida, naročito nakon pandemije SARS-CoV-2 i multisistemnog upalnog odgovora (MIS-C) (41). Antivirusni lijekovi se mogu primijeniti u slučajevima dokazane aktivne virusne infekcije čak i kada virus u samom miokardu nije dokazan. Dostupni lijek za herpes simplex virus je aciklovir, za CMV i humani herpes virus 6 – ganciklovir, oseltamivir i baloxivir za influencu, cidofovir za adenovirus, remdesivir za SARS-CoV-2 te više antivirusnih lijekova za HIV i hepatitis C. Miokarditis gigantskih stanica, sarkoidoza i eozinofilni miokarditis su vrlo rijetki u dječjoj dobi i odlično reagiraju na imunosupresivnu terapiju kortikosteroidima. Isto vrijedi i za miokarditise u sklopu drugih sistemskih autoimunih bolesti. Miokarditisi u sklopu reumatske vrućice i Kawasakijske bolesti liječe se prema jasno definiranim smjernicama. Loš funkcionalni status pacijenta, povišen BNP, povišen troponin u serumu, tahiaritmije i disfunkcija ventrikula su čimbenici povezani s lošim ishodom miokarditisa. Postoje podaci koji ukazuju na to da je oporavak funkcije lijeve klijetke različit ovisno o etiologiji miokarditisa, u većine uslijedi do 60 mjeseci nakon inicijalne prezentacije.

Po otpustu iz bolnice nastavlja se kardiološko praćenje redovitim kontrolama koje uključuju snimanje EKG-a, UZV srca i praćenje kardioloških biomarkera u krvi (42). Rasprave se još vode o potrebi za kontrolnom biopsijom miokarda, kontrolnom magnetu srca i trajanju medikamentoznog liječenja. Općeniti je stav da je u slučaju kad postoji ventrikularna disfunkcija praćena s povišenim upalnim markerima i virusna aktivnost dokazana PCR-om iz krvi potrebno ponoviti biopsiju i magnetsku rezonancu srca tijekom praćenja. Isto tako je razumno da se medikamentozna terapija ukine ukoliko su svi rezultati dijagnostičkih testova negativni – ostaje samo veliko i još neodgovoreno pitanje nakon kojeg vremena normalizacije nalaza. Unatoč oporavku sistoličke funkcije miopatija se može pojaviti kasnije tijekom života. Podaci iz trogodišnjeg praćenja velike skupine pacijenta s miokarditisom koji je potvrđen biopsijom miokarda pokazali su da 46 % do 48 % njih ima na UZV srca disfunkciju ventrikula, 6-7 % ih je umrlo, a 17-19 % je trebalo transplantaciju srca (43). Vrlo je vjerojatno da su neki od odraslih pacijenata s idiopatskom dilatacijskom kardiomiopatijom preboljeli miokarditis inaparentno u dječjoj dobi. Preporuka je da se djeca mogu vratiti uobičajenim

tjelesnim aktivnostima nakon 6 mjeseci od početka bolesti i to nakon što na kontrolnom UZV srca nema znakova disfunkcije lijeve klijetke, normalni su kardiološki biomarkeri, na 24-satnom Holteru EKG nema aritmije, a kod sportaša prije vraćanja treniranju potrebno je napraviti ergometrijsko testiranje (44).

PERIKARDITIS

Perikard je dvoslojna vreća oko srca i polazišta velikih krvnih žila na bazi srca. Sastoji se od dvije ovojnice, serozne visceralne i fibrozne parijetalne. Između njih se nalazi manja količina tekućine koja smanjuje trenje između ovojnica tijekom srčane kontrakcije a po svom sastavu je ultrafiltrat plazme. Funkcija je perikarda da odvaja srce od drugih organa u prsnoj koži, štiti ga od infekcije i tupe traume, ograničava rastezanje srčanih šupljina. Bogato je inerviran simpatičkim i somatskim aferentnim živčanim vlaknima. Mehanoreceptori osjetljivi na rastezanje, reagiraju na promjene u srčanom volumenu i pritisku, te mogu biti odgovorni za odašiljanje perikardijalne boli.

Perikarditis je upala visceralne i parijetalne ovojnice perikarda i nije česta bolest u djece. Podatci o učestalosti bolesti u općoj populaciji su oskudni, smatra se da je incidencija bolesti 30-150/100 000 na godinu. Uzrok je boli u prsima u <0,2 do 5 % djece koja zbog toga dođu u hitni prijem a da nemaju prethodnu bolest srca. Perikarditis se klinički može manifestirati kao akutni, rekurentni ili kronični (45, 46).

Akutni perikarditis razvija se vrlo brzo, što uzrokuje upalu perikarda i često perikardijalni izljev. Upala se može proširiti na epikardijalni miokard (mioperikarditis).

Rekurentni perikarditis se definira kao perikarditis koji se ponovno javi nakon više od 6 tjedana od prestanka simptoma akutnog perikarditisa.

Kronični perikarditis se definira kao perikarditis u trajanju > 6 mjeseci.

Konstriktivni perikarditis predstavlja kroničnu upalu perikarda s gubitkom njegove elastičnosti zbog čega je otežano punjenje ventrikula u diastoli.

Etiološki razlikujemo infektivni i neinfektivni perikarditis. Virusi su najčešći uzročnici u razvijenim

zemljama dok je u zemljama u razvoju najčešći uzrok tuberkuloza. Uglavnom isti virusi koji najčešće uzrokuju miokarditis mogu uzrokovati i perikarditis. Ukoliko ne postoji jasni uzrok upale govorimo o idiopatskom perikarditisu. Iako su virusi najčešći infektivni uzročnici perikarditisa u djece, zadnjih desetljeća se kao najčešći uzrok navodi postperikardiotomijski sindrom. Podatci dobiveni analizom velike baze podataka jednog centra ukazuju na postperikardiotomijski sindrom kao uzrok u 54 % slučajeva, na drugom mjestu su maligne bolesti (13 %) i bubrežna bolest u 13 % slučajeva, dok se virusna etiologija našla u 5 % slučajeva kao i reumatološka bolest (5 %).

Klinička slika

Simptomi perikarditisa ovise o uzroku upale perikarda. U izoliranog virusnog perikarditisa najčešće je glavni simptom bol u prsima uz povišenu tjelesnu temperaturu, ali kliničkom slikom mogu dominirati i opći simptomi virusne infekcije. Jednako tako kod sistemnih autoimunih bolesti mogu dominirati simptomi tih bolesti npr. povišena tjelesna temperatura, osip, otok zglobova, gubitak na tjelesnoj težini. Bolu prsima u sklopu perikarditisa je tipično oštra, ali može biti i tupa, stezajuća a posebno je karakteristično da se pojačava u ležećem položaju. Naginjanjem tijela naprijed i u sjedećem položaju bol se smanjuje. Udah i kašljanje također mogu pojačavati osjet boli. Ukoliko je zbog brzo nastajućeg perikardijalnog izljeva nastala distenzija donje šuplje vene pacijent će se žaliti na bol u trbuhu. Perikardijalno trenje kao auskultacijski nalaza na srcu se može čuti uz lijevi rub sternuma, naročito kada se pacijent nagne prema naprijed. Ako postoji velika količina perikardijalnog izljeva trenje se neće čuti. Konstriktivni perikarditis se klinički prezentira povišenim jugularnim tlakom koji se tipično u inspiriju dodatno povećava (Kussmaulov znak). Simptomi i znakovi periferne venske kongestije (npr. periferni edemi, distenzija vratnih vena, hepatomegalija), mogu se javiti s ranim diastoličkim zvukom (perikardijalni udarac), koji se najbolje čuje u inspiriju. Ovaj zvuk nastaje zbog iznenadnog usporavanja diastoličkog punjenja ventrikula rigidnim perikardom. Dugotrajniji porast pulmonalnog venskog tlaka dovodi do zaduhe (naročito u naporu) i ortopneje. Ponekad se pacijent žali na izraziti osjećaj umora. Perikardijalni izljev ukoliko je manji ili srednje velik

najčešće nema simptoma, klinički nalaz je također uredan. Ako je izljev veliki i postoje znakovi srčane tamponade može se vidjeti karakteristični Beckov trijas – tihi srčani tonovi, distenzija vratnih vena i hipotenzija.

Dijagnoza

Dijagnoza perikarditisa je prvenstveno klinička na temelju prisutnosti najmanje 2 simptoma od 4 moguća – bol u prsima, auskultacijski nalaz perikardijalnog trenja, specifične EKG promjene i nalaz izljeva u perikardu. Kod sumnje na perikarditis potrebno je napraviti EKG, RTG prsnog koša, transtorakalni UZV srca i biomarkere upale i srčane lezije. Ostale pretrage ovise o drugoj simptomatologiji i eventualno drugoj bolesti u sklopu koje se perikarditis razvio. Promjene u EKG-u su posljedica upale epikarda i bliskog miokarda. Specifične promjene za perikarditis su elevacija S-T spojnice koja može biti udružena i s depresijom P-R segmenta. Tijekom razvoja bolesti te se promjene također mijenjaju:

Faza I: konkavna elevacija ST segmenata; spušten PR segment

Faza II: povratak ST segmenat na početne vrijednosti, aplanirani odnosno poravnati T valovi

Faza III: inverzija T-vala se javlja nakon povratka ST-segmenta u normalu i tako se razlikuje od oblika akutne ishemije ili IM

Faza IV: regresija promjena T valova.

Rendgenska snimka prsnog koša je korisna iz više razloga, daje informaciju o veličini srca, izgledu srčane sjene ali i informacije o plućnom parenhimu i eventualnoj zahvaćenosti pleure. Transtorakalni ultrazvučni pregled srca je slikovna pretraga koja daje najbolji uvid u postojanje perikardijalnog izljeva, količinu perikardijalnog izljeva te u kolikoj mjeri postoji opasnost od tamponade srca. Pretraga je široko dostupna, za pacijenta sigurna, jednostavna za uporabu i kao takva najznačajnija ne samo za postavljanje dijagnoze nego i za praćenje učinka liječenja, te za pravovremeno uočavanje hemodinamske ugroze. Ultrazvuk srca također pokazuje ako postoji i miokarditis s perikarditisom te u kojoj mjeri je uslijed toga oštećena sistolička funkcija lijeve klijetke. Karakteristično je za perikarditis da se vidi zadebljan i hiperehogen perikard, premda množe biti i normalan nalaz. Kom-

pjuterizirana tomografija (CT) srca i magnetska rezonanca srca su dodatne slikovne pretrage kojima se koristimo kada je nalaz UZV srca nejasan ili dvojben. Koristan je posebno u pacijenata kod kojih nema povoljnog terapijskog odgovora a kod koji je značajno kompromitirana hemodinamika, u slučaju traume, perzistentne vrućice ili ako se traži drugi uzrok perikarditisa. Magnetska rezonanca srca osim morfoloških karakteristika srca jako dobro pokazuje hemodinamske parametre. Tako može pokazati istovremeno postojanje miokarditisa te u kolikoj mjeri zahvaća srce s posljedičnim oštećenjem sistoličke funkcije. Za razliku od drugih pretraga loša je u detekciji kalcifikata u perikardu. Biokemijski parametri koji se u krvi pacijenta prate služe za detekciju upale i istovremenu zahvaćenost miokarda. Srčani biomarkeri su visoko osjetljivi troponin I, troponin T, CK-MB te ukoliko su uz upalne parametre i oni povišeni sugerira na zahvaćenost upalom miokarda uz perikard. Tako kod kliničkog sindroma mioperikarditisa uz povišene srčane parametre nema ultrazvučnih pokazatelja zahvaćenosti miokarda niti se ona vidi magnetskom rezonancom. Za razliku od perimikarditisa gdje dominira miokarditis dok je perikarditis samo prateća bolest, manje je benignog tijeka jer je često praćen za značajnom disfunkcijom lijeve klijetke. Ukoliko je perikarditis nastao u sklopu druge sistemne bolesti to će onda odrediti i druge dijagnostičke pretrage koje je potrebno učiniti. Perikardiocenteza se ne izvodi rutinski, rezervirana je samo za slučajeve prijeteće tamponade srca, biokemijska i mikrobiološka analiza tako dobivenog izljeva dodatno pomaže u određivanju uzroka perikarditisa.

Liječenje

Osnovu medikamentoznog liječenja akutnog i rekurentnog perikarditisa čine nesteroidni protuupalni lijekovi kao što su ibuprofen, indometacin ili naproksen (Tablica 3.).

Druga linija lijekova koje se primjenjuje u liječenju perikarditisa i perikardijalnog izljeva su kortikosteroidi. Unatoč njihovoj čestoj primjeni kao prvog lijeka u liječenju perikarditisa, postoji sve veća sumnja da njihova primjena povećava rizik od razvoja rekurentnog perikarditisa. Stoga je u preporukama za liječenje perikarditisa u odraslih navedeno da se kortikosteroidi kao druga linija terapije

Tablica 3. Medikamentozna terapija perikarditisa

Lijek	Doza	Smanjivanje doze
Ibuprofen	10-16 mg/kg/doza svakih 8 h PO; (maksimalno 600 mg/doza ili 1,8 g/dan)	smanjivati dozu svakih 1-2 tj za 2 mg/kg/doza; ukinuti kada je doza 4 mg/kg/doza svakih 8 h
Indometacin	Za djecu stariju od 2 godine 0,25-1 mg/kg/doza svakih 6-12 h PO; maksimum 50 mg/doza ili 150 mg/dan	Smanjivati dozu svaka 1-2 tj. za 0,25 mg/kg/doza svakih 6-12 h; ukinuti kada se postigne doza 0,25mg/kg/doza svakih 12 h
Naproksen	Za djecu stariju od 2 godine 5-7,5 mg/kg/doza svakih 12 h PO; maksimum 500 mg/doza ili 1 g/dan	Smanjivati dozu svaka 1-2 tjedna za 2,5 mg/kg/doza svakih 12 h; prekinuti kada se postigne 2,5 mg/kg/doza svakih 12 h
Kolhicin	0,5 mg/dan (mlađi od 5 god); 1-1,5 mg/dan (stariji od 5 god)	
Anakinra	1-2 mg/kg dnevno do 100 mg SC	ne smanjivati dozu prije 3-6 mj. liječenja
Prednizon	0,5-2 mg/kg/dan	

primjenjuju samo kod pacijenata alergičnih na nesteroidne protuupalne lijekove i kolhicin i to nakon što se isključi infektivna etiologija perikarditisa. Uobičajena doza peroralnih oblika kortikosteroida je 0,25-0,5 mg/kg/dan (48). Ukoliko su NSAID sami slabo djelotvorni u liječenju perikarditisa može se u terapiju dodati kolhicin. Ovaj lijek se nakuplja u značajnoj mjeri u leukocitima gdje ometa njihovu funkciju i tako djeluje protuupalno. Lijekovi s imunomodulatornim djelovanjem se danas s uspjehom primjenjuju u liječenju rekurentnog perikarditisa kod kojeg su se NSAID i kolhicin u kombinaciji s kortikosteroidima pokazali neuspješni. Od ovih lijekova primjenjuju se rilonacept i anakinra. Za sada postoji više podataka o liječenju anakinrom odraslih pacijenata nego u djece premda se i u njih uspješno primjenjuje, te omogućuje ukidanje kortikosteroidne terapije uz dramatično poboljšanje kliničke slike (49). Perikardiocenteza i kirurška drenaža je potrebna kako bi se dobio uzorak za analizu i otkivanje uzroka upale. To naročito vrijedi za slučaj kad se radi o purulentnom ili tuberkuloznom perikarditisu. Ovisno o uzročniku modificirati će se antiinfektivna terapija. Hitna perikardiocenteza i/ili kirurška drenaža je potrebna i u slučaju srčane tamponade. U ovom slučaju je tijekom pripreme za drenažnu nužno dati plazma ekspanzere u bolusu kako bi se poboljšalo punjenje srca. Konstriktivni perikarditis se liječi kompletnom kirurškom resekcijom perikarda, na taj način se postiže smanjenje tegoba u 75 % slučajeva.

LITERATURA

- Law YM, Lal AK, Chen S, et al. Diagnosis and management of myocarditis in children: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2021;144(6):e123-35. doi: 10.1161/CIR.0000000000001001.
- Vasudeva R, Bhatt P, Lilje C, et al. Trends in acute myocarditis-related pediatric hospitalizations in the United States, 2007-2016. *Am J Cardiol*. 2021;149:95-102. doi: 10.1016/j.amjcard.2021.03.017.
- Maron BJ, Doerer JJ, Haas TS, Tierney DM, Mueller FO. Sudden deaths in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980-2006. *Circulation*. 2009;119(8):1085-92. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.802318.
- Fabre A, Sheppard MN. Sudden adult death syndrome and other non-ischaemic causes of sudden cardiac death. *Heart*. 2006;92(3):316-20. doi: 10.1136/hrt.2005.067488.
- Doolan A, Langlois N, Semsarian C. Causes of sudden cardiac death in young Australians. *Med J Aust*. 2004;180(3):110-2. doi: 10.5694/j.1326-5377.2004.tb05875.x.
- Puranik R, Chow CK, Duflo JA, Kilborn MJ, McGuire MA. Sudden death in the young. *Heart Rhythm*. 2005;2(12):1277-82. doi: 10.1016/j.hrthm.2005.08.021.
- Harris KM, Mackey-Bojack S, Bennett M, Nwaudu D, Duncan E, Maron BJ. Sudden unexpected death due to myocarditis in young people including athletes. *Am J Cardiol*. 2021;143:131-4. doi: 10.1016/j.amjcard.2020.10.048.
- Valverde I, Singh Y, Sanchez-de-Toledo J, et al. Acute cardiovascular manifestations in 286 children with multisystem inflammatory syndrome associated with COVID-19 infection in Europe. *Circulation*. 2021;143(1):21-32. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.050065.
- Martinez MW, Tucker AM, Bloom OJ, et al. Prevalence of inflammatory heart disease among professional athletes with prior COVID-19 infection who received systematic return-to-play cardiac screening. *JAMA Cardiol*. 2021;6(7):745-52. doi: 10.1001/jamacardio.2021.0565.
- Farooqi KM, Chan A, Weller RJ, et al. Longitudinal outcomes for multisystem inflammatory syndrome in children. *Pediatrics*. 2021;148(4):e2021051155. doi: 10.1542/peds.2021-051155.

11. Wu L, Ong S, Talor MV, et al. Cardiac fibroblasts mediate IL-17A-driven inflammatory dilated cardiomyopathy. *J Exp Med*. 2014;211(7):1449–64. doi: 10.1084/jem.20132144.
12. Belhadjer Z, Méot M, Bajolle F, et al. Acute heart failure in multisystem inflammatory syndrome in children in the context of global SARS-CoV-2 pandemic. *Circulation*. 2020;142(5):429–36. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048360.
13. Feldstein LR, Rose EB, Horwitz SM, et al. Multisystem inflammatory syndrome in U.S. children and adolescents. *N Engl J Med*. 2020;383(4):334–46. doi: 10.1056/NEJMoa2021680.
14. Canter CE, Simpson KE, Simpson KP. Diagnosis and treatment of myocarditis in children in the current era. *Circulation*. 2014;129(1):115–28. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001372.
15. Messroghli DR, Pickardt T, Fischer M, Opgen-Rhein B, Pappakostas K, Böcker D, Jakob A, Khalil M, Mueller GC, Schmidt F, et al; MYKKE Consortium. Toward evidence-based diagnosis of myocarditis in children and adolescents: rationale, design, and first baseline data of MYKKE, a multicenter registry and study platform. *Am Heart J*. 2017;187:133–44. doi: 10.1016/j.ahj.2017.02.002.
16. Kociol RD, Cooper LT, Fang JC, Moslehi JJ, Pang PS, Sabe MA, Shah RV, Sims DB, Thiene G, Vardeny O; on behalf of the American Heart Association Heart Failure and Transplantation Committee of the Council on Clinical Cardiology. Recognition and initial management of fulminant myocarditis: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2020;141(6):e69–e92. doi: 10.1161/CIR.0000000000000745.
17. Lieberman EB, Hutchins GM, Herskowitz A, Rose NR, Baughman KL. Clinicopathologic description of myocarditis. *J Am Coll Cardiol*. 1991;18(7):1617–26. doi: 10.1016/0735-1097(91)90661-X.
18. Floyd A, Lal A, Molina K, Puchalski M, Miller D, May L. When lightning strikes twice in pediatrics: case report and review of recurrent myocarditis. *Pediatrics*. 2018;141(1):e20164096. doi: 10.1542/peds.2016-4096.
19. Suthar D, Dodd DA, Godown J. Identifying non-invasive tools to distinguish acute myocarditis from dilated cardiomyopathy in children. *Pediatr Cardiol*. 2018;39(6):1134–8. doi: 10.1007/s00246-018-1865-4.
20. Lauer B, Niederau C, Kühl U, et al. Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30:1354–1359. doi: 10.1016/S0735-1097(97)00317-3.
21. Miyake CY, Teele SA, Chen L, et al. In-hospital arrhythmia development and outcomes in pediatric patients with acute myocarditis. *Am J Cardiol*. 2014;113:535–540. doi: 10.1016/j.amjcard.2013.10.040.
22. Butts RJ, Boyle GJ, Deshpande SR, et al. Characteristics of clinically diagnosed pediatric myocarditis in a contemporary multicenter cohort. *Pediatr Cardiol*. 2017;38:1175–1182. doi: 10.1007/s00246-017-1630-7.
23. Jhamnani S, Fuisz A, Lindsay J. The spectrum of electrocardiographic manifestations of acute myocarditis: an expanded understanding. *J Electrocardiol*. 2014;47:941–947. doi: 10.1016/j.jelectrocard.2014.07.020.
24. Ichikawa R, Sumitomo N, Komori A, et al. The follow-up evaluation of electrocardiogram and arrhythmias in children with fulminant myocarditis. *Circ J*. 2011;75:932–938.
25. Skouri HN, Dec GW, Friedrich MG, Cooper LT. Noninvasive imaging in myocarditis. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:2085–2093. doi: 10.1016/j.jacc.2006.08.011.
26. Gursu HA, Cetin II, Azak E, et al. The assessment of treatment outcomes in patients with acute viral myocarditis by speckle tracking and tissue Doppler methods. *Echocardiography*. 2019;36:1666–1674.
27. Wisotzkey BL, Soriano BD, Albers EL, Ferguson M, Buddhe S. Diagnostic role of strain imaging in atypical myocarditis by echocardiography and cardiac MRI. *Pediatr Radiol*. 2018;48:835–842. doi: 10.1007/s00247-018-4090-0.
28. Khoo NS, Smallhorn JF, Atallah J, Kaneko S, Mackie AS, Paterson I. Altered left ventricular tissue velocities, deformation and twist in children and young adults with acute myocarditis and normal ejection fraction. *J Am Soc Echocardiogr*. 2012;25:294–303. doi: 10.1016/j.echo.2011.11.014.
29. Messroghli DR, Moon JC, Ferreira VM, et al. Clinical recommendations for cardiovascular magnetic resonance mapping of T1, T2, T2* and extracellular volume: a consensus statement by the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance (SCMR). *J Cardiovasc Magn Reson*. 2017;19:75. doi: 10.1186/s12968-017-0389-8.
30. Ferreira VM, Schulz-Menger J, Holmvang G, et al. Cardiovascular magnetic resonance in nonischemic myocardial inflammation: expert recommendations. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72:3158–3176. doi: 10.1016/j.jacc.2018.09.072.
31. Luetkens JA, Faron A, Isaak A, et al. Comparison of original and 2018 Lake Louise Criteria for diagnosis of acute myocarditis: results of a validation cohort. *Radiol Cardiothorac Imaging*. 2019;1(3):e190010. doi: 10.1148/ryct.2019190010.
32. Aretz HT, Billingham ME, Edwards WD, et al. Myocarditis: a histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol*. 1987;1:3–14.
33. Katzmann JL, Schlattmann P, Rigopoulos AG, Noutsias E, Bigalke B, Pauschinger M, Tschöpe C, Sedding D, Schulze PC, Noutsias M. Meta-analysis on the immunohistological detection of inflammatory cardiomyopathy in endomyocardial biopsies. *Heart Fail Rev*. 2020;25:277–294. doi: 10.1007/s10741-019-09824-2.
34. Shanes JG, Ghali J, Billingham ME, et al. Interobserver variability in the pathologic interpretation of endomyocardial biopsy results. *Circulation*. 1987;75(2):401–405. doi: 10.1161/01.CIR.75.2.401.

35. Mahrholdt H, Wagner A, Deluigi CC, et al. Presentation, patterns of myocardial damage, and clinical course of viral myocarditis. *Circulation*. 2006;114:1581-1590. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.606509.
36. Cooper LT. Myocarditis. *N Engl J Med*. 2009;360(15):1526-1538. doi: 10.1056/NEJMra0800028.
37. Ogunbayo GO, Elayi SC, Ha LD, et al. Outcomes of heart block in myocarditis: a review of 31,760 patients. *Heart Lung Circ*. 2019;28:272-276. doi: 10.1016/j.hlc.2018.04.296.
38. Dimas VV, Morray BH, Kim DW, et al. A multicenter study of the Impella device for mechanical support of the systemic circulation in pediatric and adolescent patients. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2017;90:124-129. doi: 10.1002/ccd.26833.
39. Drucker NA, Colan SD, Lewis AB, et al. Gamma-globulin treatment of acute myocarditis in the pediatric population. *Circulation*. 1994;89:252-257. doi: 10.1161/01.CIR.89.1.252.
40. Chen HS, Wang W, Wu SN, Liu JP. Corticosteroids for viral myocarditis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;2013(10):CD004471. doi: 10.1002/14651858.CD004471.pub3.
41. Schauer J, Newland D, Hong B, et al. Treating pediatric myocarditis with high-dose steroids and immunoglobulin. *Pediatr Cardiol*. 2022;44:1-10. doi: 10.1007/s00246-022-02961-8.
42. Putschoegl A, Auerbach S. Diagnosis, evaluation, and treatment of myocarditis in children. *Pediatr Clin North Am*. 2020;67(5):855-874. doi: 10.1016/j.pcl.2020.05.003.
43. Foerster SR, Canter CE, Cinar A, et al. Ventricular remodeling and survival are more favorable for myocarditis than for idiopathic dilated cardiomyopathy in childhood: an outcomes study from the Pediatric Cardiomyopathy Registry. *Circ Heart Fail*. 2010;3:689-697.
44. Patriki D, Baltensperger N, Berg J, et al. A prospective pilot study to identify a myocarditis cohort who may safely resume sports activities 3 months after diagnosis. *J Cardiovasc Transl Res*. Published online May 4, 2020. doi: 10.1007/s12265-020-10015-8.
45. Imazio M, Cecchi E, Demichelis B, et al. Myopericarditis versus viral or idiopathic acute pericarditis. *Heart*. 2008;94(4):498-501. doi: 10.1136/hrt.2007.118497.
46. Ratnapalan S, Brown K, Benson L. Children presenting with acute pericarditis to the emergency department. *Pediatr Emerg Care*. 2011;27(7):581-585. doi: 10.1097/PEC.0b013e31822255d8.
47. Shahid R, Jin J, Hope K, Tunuguntla H, Amdani S. Pediatric pericarditis: update. *Curr Cardiol Rep*. 2023;25(3):157-170. doi: 10.1007/s11886-023-01790-x.
48. Adler Y, Charron P, Imazio M, et al. ESC guidelines for the diagnosis and management of pericardial diseases: the task force for the diagnosis and management of pericardial diseases of the European Society of Cardiology (ESC), endorsed by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J*. 2015;36(42):2921-2964. doi: 10.1093/eurheartj/ehv318.
49. Rodriguez-Gonzalez M, Ruiz-Gonzalez E, Castellano-Martinez A. Anakinra as rescue therapy for steroid-dependent idiopathic recurrent pericarditis in children: case report and literature review. *Cardiol Young*. 2019;29(2):241-243. doi: 10.1017/S1047951118002085.

Adresa za dopisivanje:

Sanja Dorner, dr. med.
KBC Osijek
Klinika za pedijatriju
31000 Osijek, J. Huttlera 4
E-mail: sanja.dorner@kbco.hr

S U M M A R Y

Childhood myocarditis and pericarditis

Sanja Dorner

Myocarditis is an inflammatory disease of the middle, muscular part of the heart in which inflammation of heart cells leads to temporary or permanent damage with consequent loss of function, which is clinically manifested by heart failure and/or arrhythmia. It is considered a rare disease, although the incidence is unknown because most cases with milder clinical symptoms are not recognized. The clinical presentation is very diverse, from very mild, asymptomatic cases to heart failure and cardiogenic shock. Diagnosis is based on the history and clinical findings, elevated inflammatory and cardiac biomarkers in serum, and imaging tests, where ultrasound and magnetic resonance imaging of the heart play key roles. The therapeutic approach depends on the hemodynamic abnormalities in the patient. Pericarditis is an inflammation of the visceral and parietal pericardium and is not a common disease in children. Although data on the incidence of the disease in the general population are scarce, it is believed that it is 30-150/100,000 per year. It causes chest pain in <0.2 to 5 % of children who present to the emergency department without prior heart disease. Pericarditis can present clinically as acute, recurrent, or chronic. It is treated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs, recurrent with corticosteroids and colchicine, and increasingly, in resistant forms, biological immunomodulatory therapy is also used.

Key words: MYOCARDITIS; CHILD; PERICARDITIS; ECHOCARDIOGRAPHY;
MAGNETIC RESONANCE IMAGING

Od srčanog šuma do dijagnoze

Vladimir Jegdić*

Srčani šum predstavlja auskultatorni fenomen koji nastaje zbog turbulentnog protoka krvi kroz srčane strukture ili krvne žile. Iako mnogi šumovi nisu patološki, njihova pojava može upućivati na različita srčana stanja, uključujući valvularne bolesti, prirođene srčane mane i kardiomiopatije. Ovaj članak analizira etiologiju srčanih šumova, dijagnostičke metode za njihovo otkrivanje i procjenu te klinički značaj za planiranje liječenja.

Ključne riječi: SRČANI ŠUMOVI; LIJEČENJE; EHOKARDIOGRAFIJA; BOLESTI SRČANIH ZALISTAKA

UVOD

Srčani šumovi su čest nalaz tijekom rutinskih kliničkih pregleda. Iako mnogi ne uzrokuju simptome i nemaju klinički značaj, njihova prisutnost može biti prvi znak ozbiljnih srčanih bolesti. Razlikovanje fizioloških od patoloških šumova ključno je za sprječavanje komplikacija i pravilno liječenje (1).

SRČANI ŠUMOVI

Srčani šumovi nastaju kad protok krvi postane turbulentan, što može biti uzrokovano fiziološkim ili patološkim stanjima. Fiziološki šumovi se obično pojavljuju kod zdravih osoba, osobito djece i adolescenata, zbog visoke brzine protoka krvi. Patološki uzroci uključuju valvularne bolesti kao što su stenoza zalistaka ili insuficijencija, prirođene srčane greške poput atrijskog ili ventrikularnog septalnog defekta, infektivni endokarditis te kardiomiopatije poput hipertrofične kardiomiopatije (2).

Klinička procjena srčanih šumova započinje anamnezom i fizikalnim pregledom. Važno je zabilježiti simptome poput umora, zaduhe, boli u prsima, vrtoglavice ili nesvjestice te provesti auskultaciju srca s naglaskom na intenzitet, trajanje,

ton, frekvenciju, lokalizaciju i propagaciju šuma (3). Fiziološki šumovi obično su blagi i ne prate ih simptomi, dok su patološki šumovi obično glasniji i često prate abnormalni nalazi (4, 5).

Za preciznu dijagnostiku koristi se niz metoda. Ehokardiografija se smatra zlatnim standardom jer omogućuje vizualizaciju anatomskih i funkcionalnih abnormalnosti srca (6). Elektrokardiogram (EKG) pomaže u otkrivanju aritmija i hipertrofije srčanih klijetki, dok rendgenska snimka prsnog koša prikazuje veličinu i oblik srca te moguće znakove zastoja krvi u plućima (7). Napredne tehnike poput magnetne rezonance srca (MRI) i kateterizacije srca koriste se za kompleksnije anatomske detalje i mjerenja tlakova u srčanim šupljinama (8).

Klinički značaj srčanih šumova leži u razlikovanju fizioloških od patoloških stanja te planiranju odgovarajućeg liječenja. Fiziološki šumovi obično ne zahtijevaju liječenje, ali se preporučuje povremeno praćenje. Liječenje patoloških šumova uključuje farmakoterapiju poput diuretika, beta-blokatora ili ACE-inhibitora za srčanu insuficijenciju, kao i kirurške intervencije poput zamjene ili popravka zalistaka te korekcije prirođenih srčanih grešaka. Intervencijske procedure, poput ugradnje okludera ili dilatacije suženja, također se koriste ovisno o etiologiji.

* Sveučilišna klinička bolnica Mostar, Klinika za dječje bolesti, Ulica Kralja Tvrtka bb, 88000 Mostar

ZAKLJUČAK

Srčani šumovi predstavljaju važan klinički nalaz koji može varirati od benignog do indikatora ozbiljnih srčanih patologija. Temeljita procjena i pravilno korištenje dijagnostike ključni su za rano otkrivanje i uspješno liječenje srčanih bolesti. Buduća istraživanja trebala bi se usredotočiti na poboljšanje neinvazivnih metoda dijagnostike i optimizaciju liječenja.

LITERATURA

1. Frank JE, Jacobe KM. Evaluation and management of heart murmurs in children. *Am Fam Physician*. 2011;84(7):793-800.
2. Martins P, Dinis A, Canha J, Ramalheiro G, Castela E. Innocent heart murmurs. *Rev Port Cardiol*. 2008;27(6):815-831. doi: 10.1016/S0870-2551(08)74468-0.
3. Frommelt MA. Differential diagnosis and approach to a heart murmur in term infants. *Pediatr Clin North Am*. 2004;51(4):1023-1032. doi: 10.1016/j.pcl.2004.05.002.
4. Poddar B, Basu S. Approach to a child with a heart murmur. *Indian J Pediatr*. 2004;71(1):63-66. doi: 10.1007/BF02723474.

5. Geggel RL. Conditions leading to pediatric cardiology consultation in a tertiary academic hospital. *Pediatrics*. 2004;114(4):e409-e417. doi: 10.1542/peds.2003-1141-F.
6. Danford DA, Martin AB, Fletcher SE, Gumbiner CH. Echocardiographic yield in children when innocent murmur seems likely but doubts linger. *Pediatr Cardiol*. 2002;23(4):410-414. doi: 10.1007/s00246-002-0212-2.
7. Oeppen RS, Fairhurst JJ, Argent JD. Diagnostic value of the chest radiograph in asymptomatic neonates with a cardiac murmur. *Clin Radiol*. 2002;57(8):736-740. doi: 10.1053/crad.2002.0846.
8. Patel AR, et al. Magnetic Resonance Imaging of the Heart. *Circulation*. 2010;121(5):692-705.

Adresa za dopisivanje:

Prim. mr. sc. **Vladimir Jegdić**, dr. med.
Sveučilišna klinička bolnica Mostar
Klinika za dječje bolesti
Ulica Kralja Tvrtka bb, 88000 Mostar
Tel. +387 36 336 000
e-mail: jegdic.vlado@gmail.com

SUMMARY

From a heart murmur to a diagnosis

Vladimir Jegdić

A heart murmur is an auscultatory phenomenon caused by turbulent blood flow through cardiac structures or blood vessels. Although many murmurs are not pathological, their occurrence can indicate various cardiac conditions, including valvular diseases, congenital heart defects, and cardiomyopathies. This article reviews the etiology of heart murmurs, diagnostic methods for their detection and evaluation, and clinical significance for treatment planning.

Key words: HEART MURMURS; THERAPEUTICS; ECHOCARDIOGRAPHY; HEART VALVE DISEASES.

Važnost prenatalne dijagnostike prirođenih srčanih grešaka

Rajka Lulić Jurjević, Mladen Viljevac*

Uvod: Prirođene srčane greške (PSG) su najčešće kongenitalne anomalije, a većina se može dijagnosticirati tijekom prenatalnog života. Najveća prednost fetalne ehokardiografije je otkrivanje kritične PSG prije rođenja, jer omogućuje liječenje srca odmah nakon poroda smanjujući neonatalni morbiditet i mortalitet. Za fetuse čije su srčane greške ovisne o otvorenom arterijskom dukтусu ili kod kojih postoji potencijalna potreba za ranom neonatalnom operacijom ili intervencijom, važan je planirati porod u referalnom kardiološkom centru bez potrebe za dodatnim transportom novorođenčeta. Razumijevanje hemodinamike fetalne cirkulacije i kratkoročnih i dugoročnih promjena koje se javljaju s prijelazom na cirkulaciju novorođenčeta važne su za pravovremenu skrb novorođenčeta i presudne za prepoznavanje, dijagnosticiranje i liječenje novorođenčeta sa značajnom prirođenom srčanom greškom.

Zaključak: Najveća je prednost fetalne ehokardiografije prenatalno otkrivanje kritične prirođene srčane greške prije rođenja, što omogućuje liječenje djeteta odmah nakon poroda i značajno smanjuje postnatalni morbiditet i mortalitet. Prenatalna ultrazvučna dijagnostika omogućuje fetalnom kardiologu predvidjeti moguće rizike hemodinamske nestabilnosti novorođenčeta nakon rođenja, planirati multidisciplinarno vođenje poroda i optimalno liječenje bolesnika s prirođenom srčanom greškom.

Ključne riječi: SRČANE GREŠKE, PRIROĐENE; KARDIOLOGIJA; EHOKARDIOGRAFIJA; PRENATALNA DIJAGNOZA; FETUS

UVOD

Prirođene srčane greške (PSG) su najčešće kongenitalne anomalije i širok je raspon PSG koje je moguće dijagnosticirati fetalnom ehokardiografijom s vrlo visokim stupnjem dijagnostičke točnosti. Prenatalno otkrivanje srčanih mana ovisno je o kvalitetnom probiru (screeningu) ginekologa - opstetričara, koji zbog sumnje na srčanu grešku ili prisutne rizične faktore, trudnicu upućuju na fetalnu ehokardiografiju (1).

Ciljani probir na srčane greške trebao bi biti obavljen u svih trudnica, kao dio rutinskog opstetričkog ultrazvučnog /UZV/ pregleda, tijekom drugog trimestra (2).

U većini zemalja najčešći načini upućivanja trudnice na specijalistički pregled pedijatrijskom kardiologu su sumnja na srčanu grešku tijekom rutinskog pregleda perinatologa ili postojanje specifičnih čimbenika rizika koji mogu biti razlog pojavi srčane greške (tablica 1). Poznati su maternalni i fetal-

* Dječja bolnica Srebrnjak, Klinika za pedijatriju, Srebrnjak 100, Zagreb, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayer u Osijeku

Tablica 1. Čimbenici rizika koji potiču na detaljan pregled srca fetusa**Fetalni:**

Sumnja na srčanu anomaliju
 Povećan nuchalni nabor
 Fetalni hidrops
 Anomalije koje mogu biti povezane sa srčanom greškom (npr dijafragmalna hernija, omfalokela, itd)
 Fetalna aritmija
 Kromosomopatije (npr Trisomija 21)
 Blizanačka trudnoća
 Anomalije pupčane ili posteljične anatomije

Majčinski:

Obiteljska anamneza – prirođena srčana greška, rodbinstvo u prvom koljenu
 Dijabetes melitus
 Majka na terapiji koja može biti teratogena – antikonvulzivi, litij
 Lupus ili Sjogrenov sy – anti – SSA i anti SSB antitjela
 Infekcije majke (npr Parvovirus, Cocksackie)
 Korištenje tehnologije potpomognute oplodnje
 Fenilketonurija

ni visoko rizični faktori, koji mogu utjecati na prisutnost i povezanost s prirođenom srčanom greškom (3, 4).

No, važno je naglasiti da se najveći broj prirođenih srčanih grešaka dijagnosticira u zdravih trudnica koje su u “nisko rizičnoj” grupi, odnosno nemaju majčinske i fetalne indikacije za upućivanje na ultrazvučni (UZV) pregled srca fetusa (4, 5). Zato je ključno, u otkrivanju PSG, uvežbanost i adekvatan pregled opstetričara koji će postaviti sumnju na postojanje srčane greške i trudnicu uputiti na fetalnu ehokardiografiju (5).

Nakon što je ultrazvučnom dijagnostikom otkrivena srčana greška i shvaćena patofiziologija srčane greške, stvoreni su uvjeti za pravovremeno planiranje liječenja djeteta *in utero* ili nakon rođenja. Analizirajući kompleksnost patološkog odstupanja fiziologije srčane greške prije poroda, moguće je predvidjeti rizik postnatalne hemodinamske nestabilnosti, vođenje poroda uz multidisciplinarnu suradnju, te praćenje patofiziologije srčane greške i utjecaja na dijete nakon poroda (6).

Vrijednost fetalne ehokardiografije je otkrivanje kritičnih prirođenih srčanih grešaka prenatalno, jer su one te koje zahtijevaju hitnu intervenciju ili liječenje odmah nakon rođenja. U suprotnom te srčane greške mogu završiti smrtnim ishodom u prvih mjesec dana života djeteta. Pravovremeno započinjanje optimalne postnatalne skrbi djece u tercijarnom centru i u blizini kardiokirurškog centra omogućuje smanjenje neonatalnog morbiditeta i mortaliteta (7).

SMJERNICE U FETALNOJ KARDIOLOGIJI

Kvalitetan prenatalni rutinski probir nadležnog ginekologa preduvjet je uspješnog otkrivanja PSG. Istraživanja su potvrdila proporcionalni utjecaj edukacije i iskustva ultrasoničara na bolje rezultate u otkrivanju prirođenih srčanih grešaka (8).

Ginekolog upućuje trudnicu pedijatrijskom kardiologu koji nakon detaljnog pregleda srca fetusa postavlja dijagnozu srčane greške. On tumači anatomiju i fiziologiju srčane greške, svojim sveobuhvatnim i suvremenim znanjem upućuje roditelje o detaljnoj građi srca, vrsti srčane greške i načinima liječenja te potrebi invazivnih ili kardiokirurških zahvata. Također, usklađuje multidisciplinarni tim i suradnju ginekologa, kardiologa, perinatologa, neonatologa i kardijalnog kirurga (9).

Preporuke su da je optimalno vrijeme za screening prirođenih srčanih grešaka između 18 – 22 tjedna gestacije (10). Fetalnu ehokardiografiju moguće je napraviti i ranije (u 16 tjednu gestacije) i može se eventualno detektirati neke kompleksne srčane greške, no neke defekte nije niti moguće tako rano vidjeti pa rana fetalna ehokardiografija ostaje samo kao početna alternativa, do standardne transabdominalne fetalne ehokardiografije koju treba učiniti ponovno u optimalno vrijeme gestacije kako je prije navedeno (11).

IZVOĐENJE FETALNE EHOKARDIOGRAFIJE

Fetalna ehokardiografija uvijek započinje standardnim dvodimenzionalnim pregledom kojim se definira visceralni i kardijalni situs. Srce je smješteno na lijevoj strani prsnog koša, s vrškom srca usmjerenim u lijevo. Srce zauzima 1/3 prsnog koša. Visceralni situs u odnosu na kardijalni je uredan kada se na lijevoj strani abdomena nalazi želudac, a na desnoj jetra. Po točno određenoj proceduri pregledava se morfologija i funkcija srca te srčani ritam (12).

Jedan od ključnih pregleda fetalnog srca je prikaz četiri komore kojim se pregledavaju položaj i veličina pretkljetki i kljetki te kontinuitet interatrijskog i interventrikularnog septuma (slika 1). Prikaz četiri šupljine srca predstavlja minimum rutinskog pregleda opstetričara u srednjem tro-



Slika 1. Prikaz četiri šupljine



Slika 2. Izlaz aorte iz Lva



Slika 3. Izlaz plućne arterije iz DVa

mjesečju gestacije fetusa. Prednost i pomoć u pregledu je referalna točka - presjek jednog fetalnog rebra, koji pomaže ultrasonografičaru u sigurnosti da je ispravan presjek prsnog koša u odgovarajućoj ravnini prikaza dva atrija i dva ventrikula (13).

Tablica 2. Mogućnosti i ograničenja fetalne ehokardiografije u otkrivanju prirodnih srčanih grešaka

Primjeri prirodnih srčanih grešaka koje su vidljive pregledom "četiri komore" srca fetusa:

- Sindrom hipoplastičnog lijevog srca
- Kritična aortna stenoza
- Trikuspidalna atrezija
- Plućna atrezija s intaktnim ventrikularnim septumom
- Atrioventrikularni septalni defekt

Primjeri prirodnih srčanih grešaka kod kojih je pregled "četiri komore" potpuno uredan/ili gotovo uredan te je neophodan pregled izlaza velikih krvnih žila

- Transpozicija velikih krvnih žila
- Tetralogija Fallot +/- plućna atrezija
- Zajednički arterijski trunksus

Primjeri prirodnih srčanih grešaka koje mogu promaknuti i vještom ultrasoničaru:

- Potpuni anomalni venski utok
- Koarktacija aorte (blaži oblici)
- Neke vrste ventrikularnog septalnog defekta
- Blaži oblici stenoze aortnog i plućnog zaliska

Primjeri prirodnih srčanih grešaka koje se ne mogu predvidjeti fetalnom ehokardiografijom:

- Otvoren arterijski duktus
- Atrijski septalni defekt tip II
- Anomalije koronarnih arterija

Prema objavljenim podacima, broj otkrivenih srčanih grešaka je značajno veći ako se u rutinskom pregledu uz prikaz četiri komore pregledavaju i izlazi velikih krvnih žila iz pripadajućih klijetki. No, mogućnost prikaza te ravnine u kojoj se vide izlazni dijelovi desnog i lijevog ventrikula je zahtjevniji i teže ga je prikazati, nego prikaz četiri komore. Pomicanjem sonde iz položaja četiri komore prema kranijalno, otvara se izlazni trakt LV-a (slika 2) i daljnjim pomicanjem sonde prema glavi fetusa križno okomito prema sprijeda otvara se izlazni trakt DV-a (slika 3). Pregledom ventrikularnog septuma provjerava se je li septum intaktan. Iz LV-a izlazi krvna žila (aorta) koja se razlikuje od krvne žile koja izlazi iz DV-a (pulmonalna arterija) koja ima bifurkaciju u lijevu i desnu pulmonalnu granu. Osim 2D prikazom sve je strukture dobro je prikazati i Color Dopplerom te Pulsnim Dopplerom (14).

Pristup koji je usvojen u centrima izvrsnosti je vizualizacija pet ključnih ultrazvučnih prikaza: kardijalni situs, prikaz četiri komore, izlazni trakt lijevog ventrikula, izlazni trakt desnog ventrikula, prikaz tri krvne žile, istmusa i arterijskog duktusa. Svi ovi prikazi mogu se dobiti pomicanjem sonde kranijalno ili kaudalno u fetusa. Fetalna ehokardiografija također uključuje i praćenje srčanog ritma. Uredan je sinus srčani ritam fetusa od 125 – 180/min (4, 14).

Prikaz izlaza velikih krvnih žila iz LV-a i DV-a ključan je za otkrivanje prirođenih srčanih grešaka kao što su transpozicija velikih krvnih žila (d-TGA), tetralogija Fallot (TOF) i trunkus arteriosus (tablica 2) koje imaju najčešće potpuno uredan prikaz četiri komore (15).

SPECIFIČNOSTI FETALNE CIRKULACIJE I PRIJELAZ NA NEONATALNU CIRKULACIJU

Primarna funkcija cirkulacijskog sustava fetusa i novorođenčeta je prijenos kisika organima i vraćanje deoksigenirane krvi u organ za izmjenu plinova kako bi se nadoknadio kisik i eliminirao otpadni produkt CO₂. U fetusa je organ za izmjenu plinova posteljica (16).

Da bi se posteljica opskrbila deoksigeniranom krvlju i vratila oksigeniranu krv u sistemske organe, potrebne su: ekstrakardijalne (duktus venosus, duktus arteriosus) i intrakardijalne komunikacije (foramen ovale). Duktus venosus je ključna struktura, jer omogućava vraćanje visoko oksigenirane krvi iz umbilikalne vene u donju šuplju venu zaobilazeći jetru (4, 16).

Foramen ovale omogućava povezanost protoka krvi između desnog i lijevog atrija fetalnog srca. Oko 40 % sistemskog venskog dotoka ulazi u LA. Arterijski duktus povezuje krvni protok iz plućne arterije u silaznu aortu. Ostalih 60 % sistemskog venskog dotoka usmjereno je u desni ventrikul, a iz njega u plućnu arteriju. 10 % protoka iz DV-a je usmjereno u pluća, a ostalih 90 % protoka arterijski duktus usmjerava u silaznu aortu, opskrbljujući organe i donje ekstremitete oksigeniranom krvlju (16).

Rođenjem prestaje pupčana cirkulacija i povezanost fetusa s posteljicom te se funkcija izmjene plinova prenosi s placente na pluća, a time iz sistemske cirkulacije u plućnu cirkulaciju. Prijelaz iz fetalne u neonatalnu cirkulaciju uključuje: eliminaciju placentalne cirkulacije, širenje pluća, povećanje protoka krvi u plućima i zatvaranje foramena ovale, arterijskog duktusa i venskog duktusa (16, 17).

Za većinu PSG, fetalne intrakardijalne i ekstrakardijalne komunikacije omogućuju preraspodjelu ventrikularnih protoka krvi tako da je sistemski protok krvi adekvatan, a fetalni rast i razvoj obično normalan tijekom trudnoće (6, 17).

Kod teške opstrukcije lijevog srca, teret sistemskog i plućnog protoka krvi prenosi se na desnu klijetku fetusa, pri čemu se preokret protoka krvi prenosi na foramen ovale, a sistemski protok krvi se u potpunosti uspostavlja preko arterijskog duktusa. Ovu cirkulaciju, koja je ovisna o arterijskom duktusu novorođenčad slabo podnosi, jer normalno zatvaranje arterijskog duktusa progresivno smanjuje sistemski protok krvi i kliničko stanje se može pogoršati do šoka i zatajenja cirkulacije (18).

Tešku opstrukciju desnog srca dobro podnose fetusi, jer se minutni volumen srca fetusa prenosi na aortu, pri čemu arterijski duktus opskrbljuje plućnu cirkulaciju. Nakon rođenja takav duktalno ovisan plućni protok krvi može dovesti do kritično niske razine plućnog protoka krvi i teške cijanoze sa zatvaranjem arterijskog duktusa (19).

Razumijevanje fetalne hemodinamike te akutnih i kroničnih promjena koje nastaju s prijelazom na cirkulaciju novorođenčeta važno je za skrb novorođenčadi i ključno je za pravovremeno prepoznavanje, dijagnozu i liječenje novorođenčeta s kritičnom PSG (20).

PREDNOSTI I OGRANIČENJA OTKRIVANJA PRIROĐENIH SRČANIH GREŠAKA FETALNOM EHOKARDIOGRAFIJOM

Prirođene srčane greške su vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta dojenčadi u odnosu na sve kongenitalne anomalije s incidencijom 6 na 1000 živorođene djece za umjerene i teške oblike (15).

Djeca s kritičnim PSG po porodu naglo razvijaju cijanozu, hipoksiju i/ili kardiogeni šok koji može dovesti do smrtnog ishoda, ako se odmah po porodu ne započne s liječenjem i potrebnim tretmanom. Fetus je odmah po porodu izložen riziku hemodinamskog popuštanja i potrebno je započeti s hitnom intervencijom odmah nakon odvajanja od placentalne cirkulacije (21).

Točna prenatalna dijagnoza, nudi potencijalne kliničke prednosti, s obzirom na ishod s manjim rizikom razvoja hemodinamskog pogoršanja, ako se duktalni protok održava otvorenim i nakon rođenja uz primjenu infuzija prostaglandina kako bi se

očuvao adekvatan plućni ili sistemski protok krvi (15, 21).

Velika većina podataka o utjecaju prenatalne dijagnoze na obolijevanje i smrtnost od PSG dolazi iz razvijenih zemalja s prenatalnim probirom u kojima su ispunjeni sljedeći uvjeti: dostupni su centri za porođaj i neonatološku intenzivnu skrb, omogućen je postnatalni kirurški, intervencijski i medicinski tretman, a i dostupna je dugotrajna terapija u programu kliničke postnatalne procjene za novorođenčad kod kojih prenatalno nije bilo moguće dijagnosticirati kompleksnu prirođenu srčanu grešku (17).

Bolesnicima sa PSG i znakovima koji ukazuju da će biti potrebno održavati cirkulaciju kroz arterijski duktus nakon rođenja, potrebno je planirati porod u pedijatrijskim kardiološkim centrima gdje je osigurana mogućnost provođenja kateterizacije i kardiokirurškog liječenja (22).

Fetusi kod kojih ne postoji rizik da će po porodu cirkulacija biti ovisna o cirkulaciji kroz arterijski duktus mogu biti rođeni u centrima bez intenzivne kardiološke skrbi.

Novorođenčad s izoliranim srčanim greškama, primjerice ventrikularni septalni defekt (VSD), balansirani atrioventrikularni septalni defekt (AVSD) ili blagom formom TOF ostaju hemodinamski potpuno stabilno in utero i mogu biti praćeni kao kardiološki bolesnici nakon poroda bez potrebe za hitnom intervencijom (23).

Prenatalno otkrivanje PSG poboljšava preoperativni morbiditet, smrtnost, i ishode kod nekih vrsta kritičnih prirođenih srčanih grešaka kao što su d-TGA i HLHS (17, 23).

Fetusima s opstruktivnom anomalijom lijevog srca, kao što su HLHS, kritična aortna stenoza, koarktacija, prekinuti aortni luk uz održavanje otvorenog arterijskog duktusa putem infuzije prostaglandina nakon rođenja održava se sistemski krvotok i sprječava kardiogeni šok. Patološki lijevo – desni pretok na nivou foramena ovale, u lijevostranih PSG, predviđa već in utero duktalna ovisnost krvotoka u PSG nakon rođenja (24).

Određivanje duktalne ovisnosti u fetusa sa sumnjom na koarktaciju aorte kao i u fetusa s opstrukcijom aortnog luka izazovan je u fetalnoj ehokardiografiji. Nalazi mogu biti lažno negativni, s urednim desno – lijevim pretokom prije poroda, a

po porodu neočekivano razvoj kliničke slike zahtijeva hitno uvođenje prostaglandina (25).

Većina bolesnika s d-TGA stabilno je in utero, jer je podržano cirkulacijom posteljice. Ubrzo nakon poroda, novorođenčad s takvom prirođenom srčanom greškom, brzo nakon poroda postaje cijanotično i potrebno je provesti hitnu balonsku atrijsku septostomiju zbog osiguravanja adekvatnog paralelnog miješanja deoksigenirane i oksigenirane cirkulacije. Smatra se da su svi bolesnici s d-TGA pod visokim rizikom razvoja hemodinamske dekompenzacije nakon poroda i važno je koordinirano planiranje poroda u blizini pedijatrijskog kardiokirurškog centra (26).

Fetusima s d-TGA kod kojih se ehokardiografijom dijagnosticira nepravilan septum primum, visoko restriktivni/intaktan atrijski septum, i/ili neadekvatan protok kroz arterijski duktus unaprijed se prenatalno može predvidjeti da će odmah nakon rođenja biti potrebno učiniti hitnu balonsku atrioseptostomiju (27).

Slično je i u fetusa sa sindromom hipoplastičnog lijevog srca (HLHS), jer se u nekih razvija restriktivni ili intaktni atrijski septum koji ometa povrat oksigeniranog protoka plućne venske krvi uzrokujući tešku hipoksiju nakon rođenja (28).

Procjena protoka kroz foramen ovale i doplersko mjerenje signifikantnog povratnog plućnog venskog protoka, u fetusa s HLHS, predviđa potrebu za hitnom atrijskom septostomijom odmah po porodu. Takvi bolesnici uz prisutnu atrijsku restrikciju i signifikantnu plućnu vensku opstrukciju imaju lošije ishode i preživljavanje, zbog sekundarnih učinaka na razvoj plućne vaskularizacije (29, 30).

Autori iz SAD-a opisuju značajnu razliku u broju smrtnih ishoda u bolesnika kod kojih je prenatalno dijagnosticiran HLHS, u odnosu na dojenčad kojima je dijagnoza postavljena nakon rođenja. Rezultati upućuju na nultu smrtnost između 14 prenatalno dijagnosticiranih HLHS, u odnosu na smrtnost 13 od 38 dojenčadi kojima je dijagnoza postavljena postnatalno. Osim nižeg mortaliteta u djece kod kojih je dijagnoza postavljena prenatalno, registrirana je i bolja funkcija LV-a, bila je manja trikuspidalna regurgitacija i smanjena potreba liječenja inotropom i bikarbonatima. Također u te djece je bila i manja učestalost neuroloških komplikacija (31).

Grupa autora iz Francuske, iz centra u kojem postoji vrlo dobro razvijen program probira za urođene srčane greške, opisuje da u grupi dojenčadi kojima je dijagnoza d-TGA otkrivena prenatalno nije bilo smrtnih ishoda, dok je u grupi bolesnika kojima je dijagnoza postavljena postnatalno smrtnost bila 6 % (32).

Autori iz dječje bolnice Evelina u Londonu, objavili su podatke o boljem ishodu bolesti u bolesnika prenatalno dijagnosticirane plućne atrezije jer su imali bolju zasićenost kisikom. Međutim, u većem broju djece dijagnoza je brzo postavljena postnatalno i tada je uveden hitno prostaglandin E. Mišljenja su da je prenatalni probir i detekcija PSG bio bolji, i rezultati postnatalno signifikantno bili bolji (6).

Opstruktivne anomalije desnog srca, kao što su pulmonalna stenoza, pulmonalna atrezija, ozbiljna TOF, ili trikuspidalna stenoza/atrezija s restriktivnim plućnim protokom, in utero će ovisiti o protoku krvi kroz otvoren arterijski duktus u pluća kako bi se spriječila teška cijanoza novorođenčeta nakon rođenja. Prisutnost zamjene protoka kroz arterijski duktus iz lijeve strane srca putem aorte prema desnoj strani srca u plućnu arteriju, umjesto normalnog fetalnog protoka iz pulmonalne arterije i arterijskog duktusa u aortu predviđa da će postnatalno ta srčana greška s opstrukcijom izlaza protoka iz desnog ventrikula biti ovisna o duktalnom protoku (6, 21, 33).

Fetusi s Epsteinovom anomalijom ili displazijom trikuspidalne valvule mogu razviti signifikantnu trikuspidalnu i pulmonalnu regurgitaciju. Pravovremeno liječenje indometacinom i ibuprofenom dovodi do vazokonstrikcije arterijskog duktusa i smanjivanja plućne regurgitacije, te se transplacentarnom terapijom može prolongirati gestaciju i omogućiti perinatalno preživljavanje (34, 35).

Neprepoznate i neliječene atrijske, ventrikularne tahiaritmije, kao i potpuni srčani blok mogu rezultirati zatajenjem srca, hidropsom ili smrću fetusa. Vrlo su zadovoljavajući ishodi uključivanja terapije trudnici transplacentarnim liječenjem fetalnih aritmija putem antiaritmika i uspješne medikamentozne konverzije u sinus ritam in utero (36).

Bolesnici s totalnim anomalnim venskim utokom (TAPVR) mogu manifestirati odmah po porodu signifikantnu cijanozu i hipoksemiju. Rijetko su

dijagnosticirani prenatalno ako su izolirani, češće su prepoznati s povezanim PSG ili u sklopu sindroma heterotaksije. Fetusi s opstrukcijom TAPVR dijagnosticirani prenatalno su u vremenskoj prednosti jer zbog značajne hipoksemije odmah po porodu mora biti spremna koordinirana intervencija tima perinatologa, kardiologa i kardiokirurga. Bolesnici kod kojih je dijagnoza postavljena prenatalno imaju značajno niži morbiditet/mortalitet u odnosu na bolesnike kod kojih je dijagnoza postavljena nakon rođenja (37).

ZAKLJUČAK

Fetalna ehokardiografija ima ključnu ulogu u prenatalnoj dijagnostici srčanih anomalija i poremećajima ritma fetusa, a osobito je važna u praćenju djece s kritičnim PSG. Najveće ograničenje za sada još uvijek ostaje na samom probiru koji ostaje na iskustvu i znanju opstetričara koji trudnicu upućuje kardiologu i pohvalna je pažnja opstetričara da i pri najmanjoj sumnji na promijenjenu anatomiju upućuju trudnicu pedijatrijskom kardiologu. Gotovo sve prirođene srčane greške mogu se dijagnosticirati tijekom prenatalnog života i većina se dijagnosticira u zdravih trudnica koje nemaju rizične faktore koji bi upućivali na srčanu anomaliju. Otkrivanje kritičnih prirođenih srčanih grešaka prije rođenja omogućilo je smanjivanje morbiditeta i mortaliteta dojenčadi, odnosno započinjanje liječenja odmah po porodu održavanjem fetalnih međucirkulacijskih spojeva, adekvatnom terapijom, invazivnim intervencijama ili operativnim zahvatom. Analiza ozbiljnosti PSG omogućuje fetalnom kardiologu da tijekom trudnoće prati srčanu funkciju, fetalnu cirkulaciju, mogući razvoj hemodinamske nestabilnosti fetusa te vodi planiranje poroda uz multidisciplinarnu suradnju specijalista perinatologa, neonatologa, pedijatrijskog kardiologa i kardijalnog kirurga.

Kratice:

PSG	– prirođene srčane greške
UZV	– ultrazvuk
LV	– lijevi ventrikul
DV	– desni ventrikul
TGA	– transpozicija velikih krvnih žila
TOF	– tetralogija Fallot
HLHS	– Sy hipoplastičnog lijevog srca
AVSD	– atrioventrikularni septalni defekt
TAPVR	– totalni anomalni venski utok

LITERATURA

1. Hoffman JL, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39(12):1890–900. doi: 10.1016/S0735-1097(02)01886-1.
2. AIUM Practice Parameter for the Performance of Fetal Echocardiography. *J Ultrasound Med.* 2020;39(1):E5–E16. doi: 10.1002/jum.15297.
3. Donofrio MT, Moon-Grady AJ, Hornberger LK, et al. Diagnosis and treatment of fetal cardiac disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2014;129(21):2183–242. doi: 10.1161/CIR.0000000000000189.
4. Simpson JM. Impact of fetal echocardiography. *Ann Pediatr Cardiol.* 2009;2(1):41–49. doi: 10.4103/0974-2069.51876.
5. Stümpflen I, Stümpflen A, Wimmer M, et al. Effect of detailed fetal echocardiography as part of routine prenatal ultrasonographic screening on detection of congenital heart disease. *Lancet.* 1996;348(9037):854–7. doi: 10.1016/S0140-6736(96)03373-5.
6. Simpson LL. Indications for fetal echocardiography from a tertiary-care obstetric sonography practice. *J Clin Ultrasound.* 2004;32(3):123–8. doi: 10.1002/jcu.20007.
7. Allan L, Dangel J, Feslova V, et al. Recommendations for the practice of fetal cardiology in Europe. *Cardiol Young.* 2004;14(1):109–14. doi: 10.1017/S1047951104001234.
8. Marek J, Tomek V, Skovranek J, et al. Prenatal ultrasound screening of congenital heart disease in an unselected national population: a 21-year experience. *Heart.* 2011;97(2):124–30. doi: 10.1136/hrt.2010.208352.
9. Levy DJ, Pretorius DH, Rothman A, et al. Improved prenatal detection of congenital heart disease in an integrated health care system. *Pediatr Cardiol.* 2013;34(3):670–9. doi: 10.1007/s00246-012-0485-3.
10. Allan LD. Cardiac anatomy screening: what is the best time for screening in pregnancy? *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2003;15(2):143–6. doi: 10.1097/01.gco.00000064943.68107.88.
11. Yagel S, Cohen SM, Messing B. First and early second trimester fetal heart screening. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2007;19(2):183–90. doi: 10.1097/GCO.0b013e32803722a3.
12. Friedberg MK, Silverman NH, Moon-Grady AJ, et al. Prenatal detection of congenital heart disease. *J Pediatr.* 2009;155(1):26–31. doi: 10.1016/j.jpeds.2009.01.011.
13. Sklansky MS, Berman DP, Pruetz JD, et al. Prenatal screening for major congenital heart disease: superiority of out-flow tracts over the 4-chamber view. *J Ultrasound Med.* 2009;28(7):889–99. doi: 10.7863/jum.2009.28.7.889.
14. Heather YS. Prenatal diagnosis of congenital heart defects: echocardiography. *Transl Pediatr.* 2021;10(8):2210–2224. doi: 10.21037/tp-21-207.
15. Cloete E, Bloomfield FH, Sadler L, de Laat MWM, Finucane AK, Gentles TL. Antenatal detection of treatable critical congenital heart disease is associated with lower morbidity and mortality. *J Pediatr.* 2019;204:66–70. doi: 10.1016/j.jpeds.2018.08.027.
16. Friedman AH, Fahey JT. The transition from fetal to neonatal circulation; normal responses and implications for infants with heart disease. *Semin Perinatol.* 1993;17(2):106–21. doi: 10.1016/S0146-0005(13)80077-6.
17. Chakraborty A, Gorla SR, Swaminathan S. Impact of prenatal diagnosis of complex congenital heart disease on neonatal and infant morbidity and mortality. *Prenat Diagn.* 2018;38(12):958–63. doi: 10.1002/pd.5344.
18. Freud LR, Moon-Grady A, Escobar-Diaz MC, et al. Low rate of prenatal diagnosis among neonates with critical aortic stenosis: insight into the natural history in utero. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(3):326–32. doi: 10.1002/uog.14775.
19. Tuo G, Volpe P, Bondanza S, et al. Impact of prenatal diagnosis on outcome of pulmonary atresia and intact ventricular septum. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(7):669–74. doi: 10.3109/14767058.2011.608059.
20. Van Velzen CL, Clur SA, Rijlaarsdam ME, et al. Prenatal detection of congenital heart disease – results of a national screening programme. *BJOG.* 2016;123(3):400–7. doi: 10.1111/1471-0528.13757.
21. Huhta JC. Guidelines for the evaluation of heart failure in the fetus with or without hydrops. *Pediatr Cardiol.* 2004;25(3):274–86. doi: 10.1007/s00246-003-0209-1.
22. Holland BJ, Myers JA, Woods CR Jr. Prenatal diagnosis of critical congenital heart disease reduces risk of death from cardiovascular compromise prior to planned neonatal cardiac surgery: a meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(6):631–8. doi: 10.1002/uog.14775.
23. Arya B, Levasseur SM, Woldu K, et al. Fetal echocardiographic measurements and the need for neonatal surgical intervention in Tetralogy of Fallot. *Pediatr Cardiol.* 2014;35(5):810–6. doi: 10.1007/s00246-013-0877-3.
24. Berning RA, Silverman NH, Villegas M, et al. Reversed shunting across the ductus arteriosus or atrial septum in utero heralds severe congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 1996;27(3):481–6. doi: 10.1016/0735-1097(95)00423-1.
25. Rychik J, Rome JJ, Collins MH, et al. The hypoplastic left heart syndrome with intact atrial septum: atrial morphology, pulmonary vascular histopathology, and outcome. *J Am Coll Cardiol.* 1999;34(2):554–60. doi: 10.1016/S0735-1097(99)00154-1.
26. Edwards LA, Arunamata A, Maskatia SA, et al. Fetal Echocardiographic Parameters and Surgical Outcomes in Congenital Left-Sided Cardiac Lesions. *Pediatr Cardiol.* 2019;40(7):1304–11. doi: 10.1007/s00246-019-02060-0.
27. Vlahos AP, Lock JE, McElhinney DB, et al. Hypoplastic left heart syndrome with intact or highly restrictive atrial septum: outcome after neonatal transcatheter atrial septostomy. *Circulation.* 2004;109(19):2326–30. doi: 10.1161/01.CIR.0000124912.97828.45.
28. Hoque T, Richmond M, Vincent JA, et al. Current outcomes of hypoplastic left heart syndrome with restrictive atrial septum: a single-center experience. *Pediatr Cardiol.* 2013;34(5):1181–9. doi: 10.1007/s00246-013-0622-4.
29. Taketazu M, Barrea C, Smallhorn JF, et al. Intrauterine pulmonary venous flow and restrictive foramen ovale in fetal

- hypoplastic left heart syndrome. J Am Coll Cardiol. 2004; 43(10):1902–7. doi: 10.1016/j.jacc.2004.02.035.
30. Graziano JN, Heidelberger KP, Ensing GJ, et al. The influence of a restrictive atrial septal defect on pulmonary vascular morphology in patients with hypoplastic left heart syndrome. Pediatr Cardiol. 2002;23(2):146–51. doi: 10.1007/s00246-002-0101-x.
31. Tworetzky W, McElhinney DB, Reddy VM, et al. Improved surgical outcome after fetal diagnosis of hypoplastic left heart syndrome. Circulation. 2001;103(9):1269–73. doi: 10.1161/01.CIR.103.9.1269.
32. Bonnet D, Coltri A, Butera G, et al. Detection of transposition of the great arteries in fetuses reduced neonatal morbidity and mortality. Circulation. 1999;99(7):916–8. doi: 10.1161/01.CIR.99.7.916.
33. Kiserud T. Physiology of the fetal circulation. Semin Fetal Neonatal Med. 2005;10(6):493–503. doi: 10.1016/j.siny.2005.07.003.
34. Torigoe T, Mawad W, Seed M, et al. Treatment of fetal circular shunt with non-steroidal anti-inflammatory drugs. Ultrasound Obstet Gynecol. 2019;53(6):841–6. doi: 10.1002/uog.20274.
35. Freud L, Wilkins-Haug LE, Beroukhi RS, et al. Prenatal NSAID therapy to mitigate circular shunt physiology in fetuses with severe Ebstein anomaly. Circulation. 2018; 138:A14979.
36. Jaeggi ET, Carvalho JS, De Groot E, et al. Comparison of transplacental treatment of fetal supraventricular tachyarrhythmias with digoxin, flecainide, and sotalol: results of a nonrandomized multicenter study. Circulation. 2011; 124(16):1747–54. doi: 10.1161/circulationaha.111.032094.
37. Domadia S, Kumar SR, Votava-Smith JK, et al. Neonatal outcomes in total anomalous pulmonary venous return: the role of prenatal diagnosis and pulmonary venous obstruction. Pediatr Cardiol. 2018;39(7):1346–54. doi: 10.1007/s00246-018-1912-2.

Adresa za dopisivanje:

Doc. dr. sc. **Rajka Lulić Jurjević**, dr. med
Dječja bolnica Srebrnjak
Klinika za pedijatriju, Srebrnjak 100, 10000 Zagreb
Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku
e-mail: rlulic-jurjevic@bolnica-srebrnjak.hr

SUMMARY

The importance of prenatal diagnosis of congenital heart defects

Rajka Lulić Jurjević, Mladen Viljevac

Introduction: Congenital heart defects (CHD) are the most common congenital anomaly, and the majority can be diagnosed during prenatal life. The greatest impact of fetal echocardiography remains the identification of critical CHD before birth to allow immediate cardiac management after delivery to decrease neonatal morbidity and mortality. For fetuses who have duct-dependent lesions or where there is a potential need for early neonatal surgery or intervention, delivery at a cardiac center may be preferable so that prompt postnatal investigations can be planned without the need for transfer of the infant. An understanding of fetal hemodynamics and the acute and chronic changes that occur with the transition to newborn circulation is important for the care of normal newborns and crucial to the recognition, diagnosis, and management of newborns with significant congenital heart disease.

Conclusion: The greatest impact of fetal echocardiography remains the identification of critical congenital heart disease before birth to allow immediate cardiac management after delivery to decrease neonatal morbidity and mortality. Prenatal ultrasound diagnostics enables the fetal cardiologist to predict possible risks of hemodynamic instability of the newborn after birth, to plan multidisciplinary management of childbirth, and to optimize the treatment of patients with congenital heart disease.

Key words: HEART DEFECTS, CONGENITAL; CARDIOLOGY; ECHOCARDIOGRAPHY; PRENATAL DIAGNOSIS; FETUS

Preporuke za bavljenje sportom djece i adolescenata sa urođenim srčanim manama

Vojislav Parezanović^{1,2}, Igor Stefanović^{1,2}, Dušan Andrić²

Ishod pacijenata s urođenom srčanom manom (USM) značajno se poboljšao, te većina doživljava odraslu dob i stvara dilemu u kliničkom radu u pogledu bavljenja sportom. Djeca i adolescenti s USM, nekorigiranom ili palijativno/kompletno korigiranom, u većini slučajeva, mogu se baviti sportom, ali im se to često ne dozvoljava zbog bezrazložnog straha roditelja, trenera, ali i liječnika sportske medicine i pedijatar. Prilikom donošenja odluke o sposobnosti bavljenjem sportom ovih osoba, neophodno je poznavati anatomiju i hemodinamski status urođene srčane mane, kao i vrstu i intenzitet sportskih aktivnosti. U ovom preglednom radu objedinjeni su vodiči europskih i američkih udruženja kardiologa koji imaju za cilj olakšati donošenje odluke u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Nedostatci u literaturi o ovoj specifičnoj temi su neminovni, pa liječnik pored praćenja smjernica mora individualizirati preporuke za svakog pacijenta.

Ključne riječi: SRČANE MANE, UROĐENE; SMJERNICE; SPORT

Urođene srčane mane (USM) su najčešće kongenitalne anomalije i obuhvaćaju širok spektar bolesti koje imaju različite hemodinamske posljedice, od blagih (asimptomatskih) do najtežih koje se manifestiraju u prvim danima i tjednima života. Zahvaljujući dostignućima kardiokirurgije i interventne kardiologije u prethodnim desetljećima, danas najveći broj kompletno ili palijativno izliječenih pacijenata s USM doživi odraslu dob, i ima normalnu dužinu i kvalitetu života.

Sva djeca imaju prirodnu potrebu kretati se, igrati i natjecati, uključujući i djecu koja imaju USM ili su ih u ranom djetinjstvu ispravili (1). Fizička aktivnost je neophodna za optimalan fizički, emocionalni i psihosocijalni razvoj, kako zdrave djece tako i djece s urođenim srčanim manama. Često smo,

međutim, svjedoci kako djeca koja su nekada ranije operirana zbog USM ili i dalje imaju srčanu manu bez većeg hemodinamskog značaja, budu neopravdano „uklonjena” iz sporta, odnosno da im je zabranjeno da se natjecateljski, organizirano bave sportskim aktivnostima. Ovo se događa zbog straha roditelja i trenera, ali vrlo često i straha pedijatar ili liječnika sportske medicine, koji bi trebali dati suglasnost i ovjeriti natjecateljsku knjižicu mladom sportašu. U ovom radu će biti prikazani stavovi europskih i američkih udruženja pedijatrijskih kardiologa i liječnika sportske medicine kod djece i adolescenata s najčešćim urođenim srčanim manama (1 – 5).

Kad se određuje sposobnost mlade osobe s USM za bavljenje sportom, u obzir se moraju uzeti tri najvažnija parametra:

¹Odeljenje kardiologije, Univerzitetska dečja klinika, Tiršova 10, Beograd, Srbija

²Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Dr Subotića 8, Beograd, Srbija

- Vrsta fizičke aktivnosti
- Težina sportske aktivnosti
- Vrsta urođene srčane mane

U Tablici 1 su prikazane vrste fizičkih aktivnosti, prema učestalosti i intenzitetu vježbanja.

Kao kriterij za razliku između rekreativnog i natjecateljskog sporta se uzima i broj sati tjednih treninga, gdje se pod pojmom značajnog napora smatra treniranje više od 10 sati tjedno (6). Većina djece s USM, uključujući i one s najtežim, palijativno korigiranim anomalijama, mogu se baviti umjerenom, individualnom fizičkom aktivnošću, bez pritiska i velikog napora. U ovom radu će se analizirati kriteriji za bavljenje natjecateljskim sportom djece i adolescenata s USM.

Težina sportskih disciplina se dijeli na temelju statičke i dinamičke komponente, odnosno na temelju snage i izdržljivosti koja je potrebna za pojedine sportske discipline. U Tablici 2 je prikazana podjela

Tablica 1. Vrste fizičkih aktivnosti, prema učestalosti i intenzitetu vježbanja

Vrste fizičke aktivnosti	Definicija
Vježbanje	Planirane fizičke aktivnosti za podizanje kondicije, mogu se sprovoditi individualno ili pod kontrolom trenera (npr. fitnes)
Rekreativni sport	Organizirani treninzi i natjecateljski sport, bez pritiska igre na visokoj razini (najveći broj djece manjeg uzrasta)
Kompetitivni sport	Organizirana aktivnost koja obavezno podrazumijeva različite stupnjeve pritiska i prisile (natjecatelja, roditelja, trenera, publike, itd.), i visok stupanj fizičkog opterećenja koji je natjecatelju nametnut

Tablica 2. Podjela najčešćih sportskih disciplina na osnovu snage i izdržljivosti

Statička komponenta (snaga)	III. Visoka (>50% MVC)	Gimnastika, jedrenje, bob, sportsko penjanje, skijanje na vodi, dizanje utega	Hrvanje, snowboarding, spust, skateboarding, bodi-bilding	Triatlon, dekatlon, brzo klizanje, veslanje, kajak, boks, biciklizam
	II. Srednja (20-50% MVC)	Motociklizam, auto utrke, konjičke utrke, streljaštvo	Umjetničko klizanje, američki nogomet, ragbi, surfanje, sinkronizirano plivanje, trčanje-sprint, skakanje (atletika)	Rukomet, plivanje, trčanje na srednje dugim udaljenostima, hokej na ledu, košarka
	I. Niska (<20% MVC)	Golf, karling, kuglanje, pucanje iz puške, bilijar	Odbojka, stoni tenis, bejzbol, mačevanje	Tenis, nogomet, skvoš, trčanje na dugačkim udaljenostima, brzo hodanje, hokej na travi, badminton
		A. Niska (<40% VO _{2max})	B. Srednja (<40 - 70% VO _{2max})	C. Visoka (>70% VO _{2max})
Dinamička komponenta (izdržljivost)				

Klasifikacija organiziranog sporta i vježbanja po Takkenu (Modificirano prema Mitchell et. al. J Am Coll Cardiol 2005;45(8): 1364–1367)

najčešćih sportskih disciplina na temelju ova dva kriterija (6).

Kad liječnik sportske medicine donosi odluku je li mladi sportaš koji ima korigiranu ili nekorigiranu urođenu srčanu manu sposoban za natjecateljsko bavljenje sportom, osim uzimanja u obzir vrstu i intenzitet treninga, mora znati i osnovne informacije o vrsti urođene srčane mane, odnosno službene preporuke. U narednom tekstu bit će riječi o najčešćim USM i kriterijima koji moraju biti ispunjeni kako bi se te osobe mogle natjecateljski baviti sportom.

Ventrikularni septalni defekt (VSD)

Ovo je najčešća USM, i njena hemodinamika ovisi o veličini šanta – djeca s malim VSD-om su asimptomatska, dok ona s velikim šantom rano razvijaju znake srčane insuficijencije, i zahtijevaju kirurški zahvat u prvim mjesecima života (najkasnije do kraja prve godine života). Prema tome, dijete ili adolescent s VSD-om može imati samo tri opcije:

- Operiran VSD – nema prepreke za aktivno bavljenje svim sportovima, bez ograničenja (kontrola kardiologa jednom godišnje)
- Neoperiran VSD, ali malog šanta, pritisak u plućima normalan – također nema ograničenja za aktivno bavljenje svim sportovima, punim intenzitetom (kontrola kardiologa jednom godišnje)
- Neoperiran VSD, velikog šanta, s razvijenom plućnom hipertenzijom – zabrana natjecateljskog bavljenja sportom

Atrijalni septalni defekt (ASD)

Ovo je druga najčešća USM, i po pravilu nije udružena sa srčanom insuficijencijom. Zbog odsustva simptoma i diskretnog auskultatornog nalaza, često se ne otkrije u prvim godinama života, već tek u adolescenciji, upravo tijekom sportsko-medicinskog pregleda. Ako je defekt manji od 7 mm, ne zahtijeva kirurško ili kateterizacijsko zatvaranje, a takve osobe nemaju nikakva ograničenja u aktivnom bavljenju sportom. Veće defekte bi trebalo zatvoriti ili operativno ili, ako je moguće, interventnom kateterizacijom. Tri do šest mjeseci poslije zatvaranja defekta takve su osobe sposobne za bavljenje svim sportovima, bez obzira na intenzitet i dužinu treninga (2). Jedino treba znati da se osobama kojima je transkateterskim putem stavljen tzv. "occluder" ne preporučuje bavljenje kontaktnim sportovima prvih 6 mjeseci po intervenciji (1).

Bikuspidna aortna valvula

Ovo je jedna od najčešćih USM i najveći broj ovih osoba je asimptomatski. Najčešće se slučajno otkrije na rutinskom ehokardiografskom pregledu jer veliki broj njih nema značajnu stenozu ili regurgitaciju na valvuli. Međutim, postoje studije koje su dokazale kako ove osobe, čak i u odsustvu značajne disfunkcije valvule, imaju znatno veću sklonost ka razvijanju dilatacije ascendentne aorte (7-10). Zbog toga, osobama s bikuspidnom aortnom valvulom, bez disfunkcije valvule, ili s blagom stenozom ili regurgitacijom (prvog stupnja) je dozvoljeno bavljenje svim vrstama sportova, ali je neophodna ehokardiografska kontrola najmanje jednom godišnje radi praćenja veličine ascendentne aorte, koja kod adolescenata i odraslih ne bi smjela biti veća od 40-45 mm.

Kongenitalna aortna stenoza

Dozvola za aktivnim bavljenjem sportom ovisi o težini stenozе, pridruženih anomalija i vrsti sporta:

A. Blaga stenoza (srednji gradijent tlaka < 25 mmHg, negira simptome, nema aritmije pri naporu) – dozvoljava se bavljenje svim sportovima, ali su potrebne kontrole kardiologa najmanje jednom godišnje;

B. Umjerena stenoza (srednji gradijent tlaka 25-40 mmHg) – ovim pacijentima je obavezno raditi test opterećenjem i ehokardiografski pregled svakih 6 mjeseci, a ako nema značajnih poremećaja ritma u naporu i nema promjena u ST segmentu tijekom ergometrije, dozvoljeno im je bavljenje sportovima niskog intenziteta (IA, IB, IIA);

C. Teška stenoza (srednji gradijent tlaka >40 mmHg) – ovim pacijentima se ne dozvoljava natjecateljsko bavljenje sportom do kirurškog ili interventnog rješavanja stenozе (1, 2, 7, 9).

Poslije kirurške korekcije aortne stenozе (ugradnje umjetne valvule), ako je funkcija umjetne valvule normalna, kao i veličina i funkcija lijeve komore, ovim osobama se dozvoljava natjecateljsko bavljenje sportom iz grupe IA, IB, IIA i IIB, s izuzetkom kontaktnih sportova!

Koarktacija aorte

Najveći broj pacijenata s koarktacijom aorte je uspješno riješen u ranoj dobi kirurškom korekcijom ili interventnom balon angioplastikom (s ili bez ugradnje stenta). Brojne studije su, međutim, pokazale da, čak i kod dobro korigirane koarktacije aorte (bez značajnog rezidualnog gradijenta), u kasnijim godinama mogu nastati ozbiljne anomalije na krvnim žilama, poput aneurizmi torakalne aorte ili cerebralnih krvnih žila i anomalija koronarnih arterija, pa je kod ovih osoba povećan rizik od cerebrovaskularnog insulta i infarkta miokarda (1, 2). Zbog toga se sportašima kod kojih je korigirana koarktacija aorte najmanje jednom godišnje preporučuje ehokardiografski pregled, 24 h ambulatorni monitoring arterijskog tlaka i test opterećenjem, a povremeno i MR srca i aortnog luka, kao i CT pregled moždanih krvnih žila.

Ako ove osobe nemaju znake arterijske hipertenzije (24 h Holter tlaka) niti značajnu rezidualnu stenozu (maksimalna razlika u tlakovima između ruku i nogu < 20 mmHg), nemaju izraženu hipertenziju na ergometriji (maksimalni tlak na test opterećenjem < 230 mmHg), i nemaju hipertrofiju lijeve komore – dozvoljava im se natjecateljsko bavljenje sportovima iz grupa IA, IB, IIA i IIB. Pacijentima kojima je kirurška korekcija urađena ugradnjom grafta, ne dozvoljava se bavljenje kontaktnim sportovima.

Kongenitalna stenoza pulmonalne valvule

Starija djeca i adolescenti s kongenitalnom pulmonalnom stenozom uglavnom imaju blagi ili umjeren stupanj opstrukcije, ili su u ranom djetinjstvu podvrgnuti nekirurškom liječenju teške pulmonalne stenozе (balon angioplastikom). Interventnom kateterizacijom danas je moguće izliječiti najveći broj kongenitalnih stenozа pulmonalne valvule s odličnim dugoročnim rezultatima. Kod osoba s nativnom ili rezidualnom pulmonalnom opstrukcijom, odluka o sposobnosti za natjecateljsko bavljenje sportom ovisi o stupnju stenozе:

- A. Blaga stenoza (maksimalni gradijent tlaka < 30 mmHg) – ako nema hipertrofije desne komore niti značajnih aritmija u naporu, dozvoljava se bavljenje svim sportovima, ali su potrebne kontrole kardiologa najmanje jednom godišnje;
- B. Umjerena stenoza (maksimalni gradijent tlaka 30 - 50 mmHg) – ako nema hipertrofije desne komore niti značajnih aritmija u naporu, dozvoljava se bavljenje sportovima niskog intenziteta (IA, IB), uz kontrole svakih 6 mjeseci;
- C. Teška stenoza (maksimalni gradijent tlaka >50 mmHg) – ovim pacijentima se ne dozvoljava natjecateljsko bavljenje sportom do interventnog rješavanja stenozе (1).

Prolaps mitralne valvule

Zbog svoje učestalosti, upravo je ovo jedna od najčešćih anomalija na srcu zbog koje liječnici sportske medicine neopravdano zabranjuju aktivno bavljenje sportom. Prolaps mitralne valvule je naime, uz bi kuspidnu aortnu valvulu, najčešća kongenitalna anomalija kod ljudi, ali je najveći broj ovih pacijenata potpuno bez simptoma, s blagom ili umjerenom mitralnom regurgitacijom. Sportašima s prolapsom mitralne valvule bi jednom godišnje trebalo učiniti ehokardiografski pregled i ergometriju. Ako nema dilatacije lijeve pretkomore i lijeve komore, volumen regurgitacije je blag ili umjeren, i nema pojave ozbiljnih aritmija, posebno u naporu, dozvoljeno im je bavljenje svim sportovima, bez ograničenja (11).

Tetralogia Fallot

Ovo je najčešća cijanotična USM i spada u grupu kompleksnih anomalija. Iako se najveći broj ovih

pacijenata vrlo uspješno operira u prvoj godini života, u kasnijoj dobi su moguće rezidualne komplikacije, najčešće u vidu regurgitacije na pulmonalnoj valvuli (s volumnim opterećenjem desne komore) i ozbiljni poremećaji ritma. Do nedavno je bilo nezamislivo da se osobama koje su operirane zbog ovako teške USM dozvoli natjecateljsko bavljenje sportom, ali sad postoje jasni kriteriji koji to dozvoljavaju (3, 12, 13). Naime, ako nema hemodinamski značajne pulmonalne regurgitacije, niti dilatacije i/ili disfunkcije desne komore, ako nema značajne rezidualne opstrukcije izlaznog trakta desne komore, ni značajnog poremećaja ritma – ovim osobama se dozvoljava natjecateljsko bavljenje sportovima iz grupa IA, IB, IIA i IIB. Naravno, ovim sportašima je neophodno najmanje jednom godišnje ponavljati EKG, ehokardiografski pregled i test opterećenjem, a svake dvije godine raditi 24 h EKG Holter monitoring i MR srca. Treba naglasiti da osobama kojima je kirurška korekcija izvršena s ugradnjom pulmonalnog konduita, ne savjetuje se bavljenje kontaktnim sportovima.

Transpozicija velikih krvnih sudova (TGA)

Ogroman napredak u liječenju ove kompleksne USM napravljen je prije nekoliko desetljeća uvođenjem “arterial switch” operacije, zahvaljujući kojoj se ova mana može uspješno ispraviti već u prvim tjednima života. Danas ove osobe uglavnom imaju normalanu kvalitetu i dužinu života i rijetko zahtijevaju kirurške reintervencije. Ipak, moguće su određene rezidualne lezije poput supraventrikularne aortne ili pulmonalne stenozе, aortne regurgitacije ili problemi vezani za koronarnu cirkulaciju. Zbog svega ovoga, u brojnim centrima se savjetuje detaljnije ispitivanje u dobi kad se počinje s bavljenjem sportom, koje uključuje ehokardiografski pregled, test opterećenjem, 24 h EKG Holter monitoring i dijagnostičku kateterizaciju srca. Ako se dokaže da nema hemodinamski značajne rezidualne lezije, da su koronarne arterije normalne morfologije, da je tlak u plućnoj cirkulaciji u granicama normalnih vrijednosti i da nema ozbiljnih poremećaja ritma – ovim osobama se dozvoljava bavljenje svim sportovima, osim onim najtežim (iz grupe IIIC), bez ograničenja (1, 5, 14, 15). Naravno, obavezne su kardiološke kontrole minimalno jednom godišnje.

Urođena i stečena oboljenja srca kod kojih se ne preporučuje natjecateljsko bavljenje sportom

Najveći broj djece i adolescenata s korigiranim USM može se natjecateljski baviti sportom. Postoji, međutim, jedan broj anomalija kod kojih se zbog ozbiljnih hemodinamskih problema, poput cijanoze, plućne hipertenzije ili ozbiljnih poremećaja ritma, aktivno bavljenje sportom ne preporučuje, i kod kojih liječnik sportske medicine ili kardiolog ne mogu staviti svoj potpis u natjecateljsku knjižicu. Među ovim oboljenjima su sljedeća:

- Plućna hipertenzija (Eisenmengerov sindrom),
- Kompleksne USM, palijativno korigirane (univentrikularno srce, Fontanova operacija),
- Kongenitalne anomalije koronarnih arterija,
- M. Ebstein s umjerenom ili teškom regurgitacijom,
- Kongenitalno korigirana transpozicija (ccTGA),
- TGA koja nije anatomske kompletno korigirana (Senning ili Mustard operacije),
- Marfanov sindrom (s dilatacijom ascendentne aorte),
- Naporom uzrokovane tahikardije i
- Kardiomiopatije (1-3).

Naravno ovim osobama se ne može dopustiti natjecateljsko bavljenje sportom, ali je preporučljivo da budu fizički aktivni, u mjeri koju sami sebi odrede, te da se bave individualnim vježbama i aktivnostima u okvirima vlastite tolerancije napora.

ZAKLJUČAK

Najveći broj djece s korigiranim USM ili nekorigiranim USM bez hemodinamskog značaja, može se aktivno, natjecateljski, baviti sportovima određene kategorije. Prilikom donošenja odluke treba poznavati prirodu same urođene anomalije srca, njenu trenutačnu hemodinamiku, kao i vrstu i intenzitet sportskih aktivnosti. Dozvolu za aktivno bavljenje sportom kod ovih osoba bi trebao donijeti liječnik sportske medicine, ali uz obaveznu konzultaciju s kardiolozima koji poznaju i liječe kongenitalne anomalije srca. Prilikom donošenja odluke u svakom pojedinačnom slučaju treba slijediti jasne preporuke i kriterije koje su postavila

europska i svjetska udruženja kardiologa i liječnika sportske medicine, kako osobne zablude i strahovi liječnika ne bi neopravdano te mlade ljude odvojile od sporta.

LITERATURA

1. Takken T, Giardini A, Reybrouck T, et al. Recommendations for physical activity, recreation sport, and exercise training in paediatric patients with congenital heart disease: a report from the Exercise, Basic & Translational Research Section of the European Association of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation, the European Congenital Heart and Lung Exercise Group, and the Association for European Paediatric Cardiology. *Eur J Prev Cardiol.* 2012;19(5):1034–1045.
2. Van Hare GF, Ackerman MJ, Evangelista JK, et al. Eligibility and disqualification recommendations for competitive athletes with cardiovascular abnormalities: Task force 4: Congenital heart disease: a scientific statement from the American Heart Association and American College of Cardiology. *J Am Coll Cardiol.* 2015;66(21):2372–2384.
3. Shibbani K, Abdulkarim A, Budts W, et al. Participation in competitive sports by patients with congenital heart disease: AHA/ACC and EAPC/ESC/AEPC Guidelines Comparison. *J Am Coll Cardiol.* 2024;83(7):772–782.
4. Pelliccia A, Sharma S, Gati S, et al. 2020 ESC Guidelines on sports cardiology and exercise in patients with cardiovascular disease; the Task Force on sports cardiology and exercise in patients with cardiovascular disease of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2021;42(1):17–96.
5. Budts W, Pielke GE, Roos-Hesselink JW, et al. Recommendations for participation in competitive sport in adolescent and adult athletes with congenital heart disease (CHD): position statement of the Sports Cardiology & Exercise Section of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC), the European Society of Cardiology (ESC) Working Group on Adult Congenital Heart Disease and the Sports Cardiology, Physical Activity and Prevention Working Group of the Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC). *Eur Heart J.* 2020;41(43):4191–4199.
6. Mitchell JH, Haskell W, Snell P, Van Camp S. Task Force 8: classification of sports. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(8):1364–1367.
7. D'Ascenzi F, Valentini F, Anselmi F, et al.; Working Group of Echocardiography of the Italian Society of Cardiology (SIC). Bicuspid aortic valve and sports: From the echocardiographic evaluation to the eligibility for sports competition. *Scand J Med Sci Sports.* 2021;31(3):510–520.
8. Bianco M, Sollazzo F, Modica G, et al. Effect of sport activity on uncomplicated bicuspid aortic valve: long-term longitudinal echocardiographic study. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2024;11(9):285.

9. Van Buuren F, Gati S, Sharma S, et al. Athletes with valvular heart disease and competitive sports: a position statement of the Sports Cardiology Section of the European Association of Preventive Cardiology. *Eur J Prev Cardiol.* 2021;28(14):1569–1578.
10. Boraita A, Morales-Acuna F, Marina-Breyse M, et al. Bicuspid aortic valve behaviour in elite athletes. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2019;20:772–780.
11. Compagnucci P, Selimi A, Cipolletta L, et al. Arrhythmic mitral valve prolapse and sports activity: pathophysiology, risk stratification, and sports eligibility assessment. *J Clin Med.* 2024;13(5):1350.
12. Schuermans A, Boerma M, Sansoni GA, et al. Exercise in patients with repaired tetralogy of Fallot: a systematic review and meta-analysis. *Heart.* 2023;109(13):984–991.
13. Buchanan M, Spence C, Keir M, Khoury M. Physical activity promotion among individuals with tetralogy of Fallot. *CJC Paediatr Congenit Heart Dis.* 2023;2(6 Pt A):322–334.
14. Takajo D, Sriram CS, Mahadin D, Aggarwal S. Exercise capacity after arterial switch operation in patients with D-transposition of great arteries: does the coronary artery anatomy matter? *Pediatr Cardiol.* 2022;43(8):1752–1760.
15. Van Wijk SW, Driessen MM, Meijboom FJ, et al. Left ventricular function and exercise capacity after arterial switch operation for transposition of the great arteries: a systematic review and meta-analysis. *Cardiol Young.* 2018;28(7):895–902.

Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. **Vojislav Parezanović**, dr. med.
Odeljenje kardiologije, Univerzitetska dečja klinika
Tiršova 10, 11000 Beograd, Srbija
e-mail: vparezan@gmail.com

SUMMARY

Recommendations for competitive sports activities in children and adolescents with congenital heart defects

Vojislav Parezanović, Igor Stefanović, Dušan Andrić

The outcomes for patients with congenital heart defects (CHD) have significantly improved, with most reaching adulthood, which raises clinical dilemmas regarding sports participation. Children and adolescents with CHD, whether uncorrected, palliatively, or completely corrected, can often engage in sports. However, they are frequently restricted due to unwarranted fears from parents, coaches, sports medicine physicians, and pediatricians. When determining the eligibility of these individuals for sports participation, it is crucial to understand the anatomy and hemodynamic status of the congenital heart defect, along with the type and intensity of the sports activity. This review compiles guidelines from European and American cardiology associations aimed at facilitating decision-making in everyday clinical practice. The lack of literature on this specific topic is inevitable, requiring physicians to individualize recommendations for each patient while adhering to guidelines.

Key words: HEART DEFECTS, CONGENITAL; HEALTH PLANNING GUIDELINES; SPORTS

Od pretilosti do hipertenzije: kako prevenirati kardiovaskularne bolesti u ranoj dobi

Vesna Herceg-Čavrak*

Globalni porast pretilosti kod djece i adolescenata predstavlja jedan od najvažnijih javnozdravstvenih izazova 21. stoljeća. Ova epidemija pridonosi značajnom povećanju prevalencije primarne hipertenzije, dijabetesa tipa 2, dislipidemije i metaboličkog sindroma u dječjoj i adolescentnoj dobi, čime se postavlja temelj za preuranjeni razvoj kardiovaskularnih bolesti u odraslih. Čimbenici rizika za razvoj hipertenzije uključuju stupanj i trajanje pretilosti, visok unos soli, sjedilački način života i nedovoljnu tjelesnu aktivnost te socijalno-ekonomski status. Mehanizmi koji povezuju pretilost i hipertenziju uključuju aktivaciju simpatičkog živčanog sustava, poremećaje u funkciji renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava, zadržavanje natrija, disfunkciju adipocita i kronično upalno stanje. Ključne intervencije za prevenciju uključuju promjene u načinu života, tjelesnu aktivnost i prehrambene mjere pri čemu je gubitak tjelesne mase ključan za snižavanje arterijskog tlaka. Rana intervencija i multidisciplinarni pristup prevenciji debljine te hipertenzije u dječjoj dobi presudni su za smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti i oštećenja ciljnih organa u kasnijim fazama života osiguravajući zdraviji kardiovaskularni profil.

Ključne riječi: PRETILOST; HIPERTENZIJA; ČIMBENICI RIZIKA SRČANIH BOLESTI; PREVENCIJA I KONTROLA; DIJETE

UVOD

Epidemija pretilosti u dječjoj dobi i adolescenciji postala je jedan od najvažnijih globalnih javnozdravstvenih problema 21. stoljeća. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije (WHO od engl. World Health Organization), u 2022. godini zabilježeno je 37 milijuna djece mlađe od pet godina s prekomjernom tjelesnom masom ili pretilošću, dok je među djecom od 5 do 19 godina taj broj dosegao čak 390 milijuna. U razdoblju od 1990. do 2022. godine prevalencija prekomjerne tjelesne mase porasla je s 8 na 20 %, a pretilosti s 2 na 8 % u dobi od 5 do 19 godina (1). U Europi,

prema podacima studije European Childhood Obesity Surveillance Initiative (COSI), prevalencija prekomjerne tjelesne mase i pretilosti u djece iznosi 29 %, s većom zastupljenošću kod dječaka (31 %) nego kod djevojčica (28 %) (2). Ovi podaci zabrinuli su kliničare, epidemiologe i stručnjake za javno zdravstvo jer prekomjerna tjelesna masa u dječjoj dobi povećava rizik razvoja brojnih kroničnih bolesti, uključujući hipertenziju, dijabetes tipa 2, dislipidemiju i metabolički sindrom. Pretilost u djetinjstvu često se proslijeđuje u odraslu dob, osobito kod adolescenata, djece s izraženom pretilošću ili pozitivnom obiteljskom anamnezom. S obzirom na to da je pretilost u odrasloj dobi pove-

* Fakultet zdravstvenih znanosti, Libertas međunarodno sveučilište, Zagreb, Hrvatska

zana s većim rizikom od kardiovaskularnih bolesti (KVB), trajno prisutna pretilost dodatno povećava taj rizik. Ostali čimbenici rizika za KVB, poput inzulinske rezistencije, dislipidemije i ubrzanе ateroskleroze često su dugotrajno prisutni. Posebno zabrinjava međusobna povezanost ovih stanja koja nerijetko vode do KVB u odrasloj dobi. Brojna istraživanja potvrđuju postojanje kardiovaskularnog kontinuuma, u kojem patološki procesi započinju pod utjecajem različitih čimbenika rizika, a postupno dovode do trajnih promjena i kardiovaskularnih komplikacija kroz oštećenje endotela, remodeliranje krvnih žila i miokarda te aterosklerotskog procesa. Kombinacija pretilosti i hipertenzije u djetinjstvu značajno povećava rizik od razvoja kardiovaskularnih bolesti u odrasloj dobi, uključujući povećanu krutost arterija, hipertrofiju lijeve klijetke i kroničnu bolest bubrega.

PREVALENCIJA HIPERTENZIJE U PRETILE DJECE

Povezanost između indeksa tjelesne mase (ITM) i arterijskog tlaka (AT) kod djece i adolescenata dobro je dokumentirana.

U usporedbi s djecom normalne tjelesne mase, rizik od hipertenzije je 1,7 puta veći kod prekomjerno teške djece, 2,6 puta kod pretile, te 4,8 puta kod izrazito pretile djece s ITM iznad 35 kg/m² (3).

Prevalencija povišenog AT značajno raste s povećanjem percentila ITM-e. Manje od 3 % djece s ITM-om ispod 90. percentile ima povišeni AT, dok je taj udio 7 - 11 % kod djece s prekomjernom tjelesnom masom, a 25 % u pretile djece. Studije iz Europe i SAD-a pokazuju da 27-47 % djece s prekomjernom tjelesnom masom ili pretilošću ima hipertenziju, ovisno o referentnim vrijednostima. Neovisno o vrijednostima AT- a pretilost u djetinjstvu povezana je s promjenama cirkadijalnog ritma AT-a i srčanog ritma, uključujući smanjeno noćno snižavanje AT-a (engl. nocturnal dipping) (4).

PATOGENEZA HIPERTENZIJE U PRETILOSTI

Prekomjerna tjelesna masa i pretilost utječu na arterijski tlak na više načina i važni su čimbenici u nastanku primarne hipertenzije. Na razvoj hipertenzije u pretilosti utječe povećana aktivnost simpatičkog živčanog sustava (SNS) i aktivacija su-

stava renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS) uz kompresiju bubrega zbog nakupljanja masti. To rezultira povećanom reapsorpcijom natrija u bubrezima i poremećenom natriurezom. Smatra se da ključnu ulogu u nastanku hipertenzije ima povećana aktivnost masnog tkiva, koje proizvodi hormone i adipokine. Proinflammatorne tvari, poput faktora nekroze tumora-alfa (TNF- α , engl. tumor necrosis factor-alpha) i interleukina-6 te C- reaktivnog proteina potiču lipolizu i nakupljanje lipida što doprinosi inzulinskoj rezistenciji. Inzulinska rezistencija i hiperinzulinemija aktiviraju simpatički živčani sustav. Aktivaciju simpatičkog sustava također potiče povećano lučenje leptina te hipoksija povezana s poremećajem spavanja koja je česta u pretilih osoba. Povećana simpatička aktivnost uzrokuje vazokonstrikciju, smanjen protok krvi u bubrezima i aktivaciju renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava (RAAS), što rezultira zadržavanjem natrija i vode te povišenjem arterijskog tlaka. Osim klasične aktivacije RAAS-a, visceralno masno tkivo dodatno potiče lučenje aldosterona, što pogoršava inzulinsku rezistenciju i pridonosi razvoju hipertenzije. Oksidativni stres i endotelna disfunkcija su također čimbenici u razvoju hipertenzije. Visoke razine aldosterona mogu uzrokovati oštećenje bubrega i upalne procese, dok genetski čimbenici i nedostatak vitamina D dodatno povećavaju rizik (5-7).

DIJAGNOZA HIPERTENZIJE U PRETILE DJECE

S obzirom na povećanu učestalost hipertenzije kod djece s prekomjernom tjelesnom masom i pretilošću, potrebno je provoditi probir na povišeni AT.

Mjerenje AT-a treba provoditi u skladu s pedijatrijskim smjernicama za hipertenziju. Kod djece s teškom pretilošću, anatomske uvjete mogu otežati pravilno mjerenje AT-a. Prikladna orukvica trebala bi obuhvatiti 80-100 % opsega nadlaktice, jer premala orukvica može dati lažno visoke, a prevelika lažno niske vrijednosti. Za precizno mjerenje AT u pretile djece preporučuje se korištenje konusne orukvice zbog oblika nadlaktice, jer standardna cilindrična orukvica precjenjuje AT za 5-8 mmHg. Dijagnoza hipertenzije zahtijeva mjerenje AT-a najmanje tri puta u tri različita posjeta, uz potvrdu dijagnoze ambulantnim 24-satnim mjerenjem (KMAT) kako bi se isključila hipertenzija "bijele kute" (8).

KMAT je također koristan za otkrivanje maskirane ili noćne hipertenzije, koja se ne može dijagnosticirati u ordinacijskim uvjetima. Prevalencija maskirane hipertenzije u pretilo djece je 9,2 – 35,7 % i raste sa stupnjem pretilosti. Djeca s većim opsegom struka imaju veću vjerojatnost za hipertenziju od djece s prekomjernom tjelesnom masom. Iako je primarna hipertenzija često povezana s pretilošću i obiteljskom anamnezom, potrebno je ipak isključiti sekundarne uzroke, tražiti kardiovaskularne rizike i oštećenja ciljnih organa. Dijagnostička procjena treba uključivati obiteljsku anamnezu hipertenzije i pretilosti, detaljnu analizu spavanja, prehrane, tjelesne aktivnosti i psihosocijalnih čimbenika te detaljan fizikalni pregled uz mjerenje antropometrijskih parametara.

Laboratorijska obrada treba obuhvatiti analizu urina, biokemijske nalaze, lipidni profil natašte, glukozu natašte, HbA1c i oralni test tolerancije glukoze. Ukoliko je potrebno, preporučuje se mjerenje aktivnosti renina, aldosterona i izlučivanja kortizola. Probir na oštećenja ciljnih organa treba uključivati ehokardiografsko određivanje mase lijeve klijetke, mjerenje debljine intime-medije karotidne arterije (CIMT, engl. carotid intima-media thickness), krutosti arterija i ultrazvuk bubrega. S obzirom na to da je pretilost multisistemska bolest, dijagnostički pristup treba uzeti u obzir potencijalne učinke na različite organske sustave (4).

PRETILOST, HIPERTENZIJA I GRUPIRANJE KARDIOVASKULARNIH RIZIKA

Pretilost i hipertenzija čine snažan temelj za grupiranje kardiovaskularnih rizika već u djetinjstvu i adolescenciji. Metaboličke abnormalnosti značajno povećavaju rizik za oštećenje ciljnih organa i razvoj kardiovaskularnih bolesti u odrasloj dobi. Od 30 do 50 % pretilo djece ima hipertenziju, 25 % inzulinsku rezistenciju, 30 % dislipidemiju – povišene vrijednosti triglicerida i sniženi HDL, a 4 % dijabetes melitus tip 2.

Za razliku od odraslih, u dječjoj dobi nemamo klinički vidljive kardiovaskularne komplikacije, stoga hipertenziju u pretilo djece možemo smatrati ranim stadijem kardiovaskularnih bolesti i najznačajnijim rizikom za oštećenje ciljnih organa i kardiovaskularni morbiditet te mortalitet.

Dvije trećine djece s ITM-e ispod 95. percentile nema niti jedan kardiovaskularni čimbenik rizika, a ostali obično imaju najviše jedan. Nasuprot tome, kod pretilo djece broj čimbenika rizika značajno raste – više od 30 % ih ima najmanje tri čimbenika rizika. Najčešće se radi o sistoličkoj hipertenziji (50 %), niskoj razini HDL kolesterola (30 %) i diastoličkoj hipertenziji (20 %) (9).

Debljina stijenke karotidne arterije značajno je veća kod pretilo djece s hipertenzijom nego kod djece s hipertenzijom i normalnom tjelesnom masom. Slično tome, hipertrofija i remodeliranje lijeve klijetke češće su u pretilo hipertenzivne djece (57 %) nego u normotenzivne pretilo djece (40 %) (10).

Studija na 2,3 milijuna izraelskih adolescenata pokazala je da je ITM iznad 95. percentile povezan sa šest puta većim rizikom od kardiovaskularne smrtnosti u petom desetljeću života (11).

PRIMORDIJALNA PREVENCIJA

Primordijalna prevencija se definira kao prevencija razvoja čimbenika rizika. U kontekstu kardiovaskularnih bolesti primordijalna prevencija podrazumijeva sprečavanje razvoja čimbenika rizika već u ranom djetinjstvu (12). U ovom članku osvrnut ćemo se samo na neke čimbenike vezane za pretilost i hipertenziju u djece.

Prekomjerna tjelesna masa i petilost

Preventivne intervencije od najranije dobi mogu značajno smanjiti rizik od pretilosti i povišenog arterijskog tlaka. Istraživanje Gillmana i sur. pokazalo je da djeca čije majke tijekom trudnoće nisu pušile, nisu dobile previše kilograma tijekom trudnoće, dojile su 12 mjeseci i čija su dojenčad spavala 12 sati dnevno, imaju manju prevalenciju pretilosti (6 % u dobi od 3 godine) u usporedbi s djecom kod kojih ti čimbenici nisu prisutni (29 %) (13).

Kliničko ispitivanje STRIP (Special Turku Coronary Risk Factor Intervention Project) iz Finske pokazalo je da individualno savjetovanje o prehrani, započeto prije prve godine života, smanjuje arterijski tlak za 1 mmHg u djece do 15. godine života. Također, godišnja prevalencija metaboličkog sindroma bila je niža u skupini adolescenata u dobi 15 do 20 godina kod kojih je provedeno savjetovanje u ranoj dobi (6–7 %) nego u kontrolnoj skupini (10–14 %) uz smanjenje inzulinske rezistencije (14).

Prehrana

Prehrambene navike i kvaliteta prehrane važni su čimbenici u razvoju povišenog arterijskog tlaka kod djece. Čimbenici povezani s visokim AT-om uključuju visoki unos natrija, nisku razinu kalija i konzumaciju zaslađenih pića. Meta-analize su pokazale kako svaki dodatni gram natrija dnevno povećava sistolički tlak za 0,8 mmHg, a dijastolički za 0,7 mmHg (15). U meta-analizi, He i MacGregor pokazali su kako smanjenje unosa natrija može smanjiti AT kod djece, s prosječnim smanjenjem od 1,2 mmHg za sistolički i 1,3 mmHg za dijastolički tlak (16). Preporučuje se dnevni unos natrija od 110 mg/dan do 1,5 g/dan od rođenja do 18. godine, ovisno o dobi. Studije pokazuju da veći unos kalija može smanjiti AT, posebno tijekom adolescencije. Kalijem bogata prehrana, poput DASH (od engl. Dietary Approaches to Stop Hypertension) prehrane koja se temelji na voću i povrću, ima dokazane koristi u snižavanju AT-a kod odraslih i potencijalne koristi kod djece. Preporučeni dnevni unos kalija kreće se od 400 mg/dan do 3 g/dan, od rođenja do 18. godine ovisno o dobi. Zaslađena pića pridonose pretilosti i povišenom AT-u. Istraživanja pokazuju da veća konzumacija zaslađenih pića povećava ITM, ali i vrijednosti AT-a, neovisno o pretilosti (12). American Heart Association (AHA) preporučuje ograničenje unosa dodanih šećera na 25 g dnevno za svu djecu (17). Prevencija prehrambenim intervencijama, poput smanjenja unosa natrija i šećera te povećanja unosa kalija kroz voće i povrće, trebala bi započeti u ranom djetinjstvu radi povoljnog učinka na AT i smanjenja rizika od pretilosti.

Tjelesna aktivnost, vrijeme provedeno pred ekranima i san

Redovita tjelesna aktivnost, smanjenje sjedilačkog ponašanja i kvalitetan san, temelj su prevencije i liječenja pretilosti i hipertenzije kod djece. Pretjerano sjedilačko ponašanje, kao što je gledanje TV-a ili drugo vrijeme pred ekranom, može imati štetne metaboličke učinke. Sjedilački način ponašanja neovisni je čimbenik rizika za metabolički sindrom (18). WHO preporučuje najmanje 60 minuta dnevno umjerene do intenzivne tjelesne aktivnosti, pretežno aerobne, za djecu i adolescente od 5-17 godina. Tri puta tjedno preporučuje se uklopiti i intenzivnu tjelesnu aktivnost koja jača mišiće i kosti (19). Preporuke za tjelesnu aktivnost

i san djece mlađe od 5 godina WHO je objavila 2019. godine. Preporučuje se zamjena sjedilačkih aktivnosti umjerenom i intenzivnom tjelesnom aktivnošću, uz očuvanje adekvatnog sna. Rana intervencija i razvoj zdravih navika u ovoj dobi ključni su za dugoročno očuvanje zdravlja i prevenciju hipertenzije. Za djecu do 1 godine starosti preporučuje se puzanje ili igra u potrbušnom položaju do 30 minuta dnevno, a za djecu do 2 godine hodanje, igra na podu, puzanje najmanje 180 minuta dnevno. Za djecu od 3 - 4 godine preporučuje se također aktivnost kroz igru najmanje 180 minuta dnevno od čega 60 minuta treba biti umjerena do intenzivna aktivnost.

Sjedilačke aktivnosti, poput gledanja televizije i korištenja elektroničkih uređaja, povezane su s povećanim rizikom od pretilosti, poremećaja sna i hipertenzije. Za djecu do dvije godine se uopće ne preporučuje izlaganje ekranima, a djeci iznad treće godine života maksimalno do 60 minuta dnevno. Starijoj djeci se preporučuje ograničiti vrijeme pred ekranom na najviše 2 sata dnevno. Nedovoljno trajanje, loša kvaliteta sna i poremećaji poput apneje povezani su s višim AT-om, osobito kod adolescenata. Preporučeno trajanje kvalitetnog sna kod djece varira ovisno o dobi - predškolska djeca (3 - 5 godina) 10 - 13 sati/dan, školska djeca (6 - 13 godina) 9 - 11 sati/dan, a adolescenti (14 - 17 godina) 8 - 10 sati dnevno. Opstruktivna apneja u snu, česta kod pretilih, može uzrokovati disregulaciju AT-a čemu doprinose epizode loše oksigenacije i buđenje. Nedostatak sna također može ometati prirodni noćni pad AT-a (20).

PREVENTIVNE STRATEGIJE

Preventivne strategije za hipertenziju i pretilost u djece usmjerene su na smanjenje prekomjerne tjelesne mase i masnog tkiva, koji predstavljaju ključne čimbenike rizika za razvoj hipertenzije. Fokus ovih strategija obuhvaća promicanje zdravih prehrambenih navika, poticanje tjelesne aktivnosti, smanjenje vremena provedenog u sjedećem položaju ili pred ekranima te osiguranje kvalitetnog sna. Postoje tri osnovne vrste intervencija koje se mogu poduzeti: individualne/obiteljske, intervencije lokalne zajednice i nacionalne intervencije.

Individualne i obiteljske intervencije trebaju se usredotočiti na edukaciju o zdravim životnim navikama, uključujući poticanje tjelesne aktivnosti i

zdrave prehrane. Istraživanja su pokazala da tri mjeseca redovite tjelesne aktivnosti mogu smanjiti sistolički tlak za 7 - 12 mmHg i dijastolički tlak za 2 - 7 mmHg. Intervencije lokalne zajednice obuhvaćaju poboljšanje pristupa zdravoj hrani, izgradnju prostora za tjelesnu aktivnost poput igrališta i biciklističkih staza te omogućavanje sportskih programa. Nacionalne strategije uključuju promicanje dostupnosti zdrave hrane kroz porezne politike i modifikaciju proizvoda, poput smanjenja soli u namirnicama, edukacijske kampanje prilagođene različitim dobnim skupinama, te podršku lokalnim vlastima u stvaranju zdravijeg okruženja. Iako pojedinačne intervencije mogu imati ograničen učinak, kombinacija različitih strategija na više razina može značajno smanjiti rizik od kardiovaskularnih bolesti te smanjiti buduće troškove zdravstvene skrbi (21).

ZAKLJUČAK

Postoje čvrsti dokazi da rizici za KVB u odrasloj dobi počinju već u djetinjstvu, te da su pretilost i hipertenzija u djetinjstvu važni čimbenici koji doprinose općem riziku od KVB. Poznato je da se aterosklerotske lezije koronarnih arterija javljaju u ranoj odrasloj dobi i da su snažno povezane s dječjom pretilošću, hipertenzijom i dislipidemijom. Čimbenici rizika za KVB i pretilost obično ostaju postojani i često se prosljeđuju u odraslu dob. Loše životne navike, poput nedovoljne tjelesne aktivnosti i loših prehrambenih navika, također počinju rano i utječu na rizik od KVB. Iako pitanje da li pretilost u dječjoj dobi izravno dovodi do povećanog rizika od KVB u odrasloj dobi ostaje nejasno, dovoljno je podataka da bi se opravdali preventivni napori usmjereni na smanjenje pretilosti i čimbenika rizika u mladima i odraslima. Posebnu pažnju treba posvetiti djeci, a osobito adolescentima, koja su istovremeno pretila i imaju čimbenike rizika za KVB, jer su izloženi visokim rizicima od kardiovaskularnih događaja, a najviše će imati koristi od mršavljenja. Također se preporučuju intervencije i za djecu s izoliranom pretilošću, budući da je vjerojatno da će ta djeca ostati pretila i u odrasloj dobi, što značajno povećava rizik od razvoja bolesti povezanih s pretilošću.

Osobe koje u odrasloj dobi postanu pretile, čak iako su u djetinjstvu bile normalne tjelesne mase, također su izložene većem riziku od bolesti. Iz tih

razloga, prekomjerno dobivanje na težini ima negativne posljedice za sve mlade ljude. Podaci pokazuju da je liječenje već razvijene pretilosti izuzetno teško, stoga je ključno uložiti napore u prevenciju i promicanje zdravih životnih navika od najranijih dana, ne samo kod djece koja su već pretila, nego kod sve djece i adolescenata. Rana intervencija i razvoj zdravih navika u dječjoj dobi ključni su za dugoročno očuvanje zdravlja i prevenciju hipertenzije. S obzirom na sveprisutnost KVB u odrasloj dobi, nužno je razviti nove strategije za preventivne pristupe na razini populacije.

LITERATURA

1. World Health Organisation. Childhood obesity. 2024 [Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>]
2. World Health Organisation. Childhood obesity: five facts about the WHO European Region 2023 [Available from: <https://www.who.int/europe/news-room/03-03-2023-childhood-obesity--five-facts-about-the-who-european-region>]
3. Nguyen T, Lau DC. The obesity epidemic and its impact on hypertension. *Can J Cardiol*. 2012;28(3):326-33. doi: 10.1016/j.cjca.2012.01.001.
4. Wuhl E. Hypertension in childhood obesity. *Acta Paediatr*. 2019;108(1):37-43. doi: 10.1111/apa.14551.
5. Wirix AJ, Kaspers PJ, Nauta J, Chinapaw MJ, Kist-van Holthe JE. Pathophysiology of hypertension in obese children: a systematic review. *Obes Rev*. 2015;16(10):831-42. doi: 10.1111/obr.12305.
6. Drozd D, Alvarez-Pitti J, Wojcik M, et al. Obesity and Cardiometabolic Risk Factors: From Childhood to Adulthood. *Nutrients*. 2021;13(11). doi: 10.3390/nu13114176.
7. Myette RL, Flynn JT. The ongoing impact of obesity on childhood hypertension. *Pediatr Nephrol*. 2024;39(8):2337-46. doi: 10.1007/s00467-023-06263-8.
8. Lurbe E, Agabiti-Rosei E, Cruickshank JK, et al. 2016 European Society of Hypertension guidelines for the management of high blood pressure in children and adolescents. *J Hypertens*. 2016;34(10):1887-920. doi: 10.1097/HJH.0000000000001039.
9. van Emmerik NM, Renders CM, van de Veer M, et al. High cardiovascular risk in severely obese young children and adolescents. *Arch Dis Child*. 2012;97(9):818-21. doi: 10.1136/archdischild-2012-301877.
10. Alp H, Karaarslan S, Eklioglu BS, Atabek ME, Baysal T. The effect of hypertension and obesity on left ventricular geometry and cardiac functions in children and adolescents. *J Hypertens*. 2014;32(6):1283-92. doi: 10.1097/HJH.000000000000176.
11. Twig G, Kark JD. Body-Mass Index in Adolescence and Cardiovascular Death in Adulthood. *N Engl J Med*. 2016;375(13):1300-1. doi: 10.1056/NEJMc1609415.

12. Falkner B, Lurbe E. Primordial Prevention of High Blood Pressure in Childhood: An Opportunity Not to be Missed. *Hypertension*. 2020;75(5):1142-50. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.14059.
13. Gillman MW, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, Oken E, Rich-Edwards JW, Taveras EM. Developmental origins of childhood overweight: potential public health impact. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(7):1651-6. doi: 10.1038/oby.2008.260.
14. Niinikoski H, Jula A, Viikari J, et al. Blood pressure is lower in children and adolescents with a low-saturated-fat diet since infancy: the special Turku coronary risk factor intervention project. *Hypertension*. 2009;53(6):918-24. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.130146.
15. Leyvraz M, Chatelan A, da Costa BR, et al. Sodium intake and blood pressure in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis of experimental and observational studies. *Int J Epidemiol*. 2018;47(6):1796-810. doi: 10.1093/ije/dyy121.
16. He FJ, MacGregor GA. Importance of salt in determining blood pressure in children: meta-analysis of controlled trials. *Hypertension*. 2006;48(5):861-9. doi: 10.1161/01.HYP.0000245672.27270.4a.
17. Vos MB, Kaar JL, Welsh JA, et al. Added sugars and cardiovascular disease risk in children: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2017;135(19):e1017-e34. doi: 10.1161/CIR.0000000000000439.
18. Kerr NR, Booth FW. Contributions of physical inactivity and sedentary behavior to metabolic and endocrine diseases. *Trends Endocrinol Metab*. 2022;33(12):817-27. doi: 10.1016/j.tem.2022.09.002.
19. World Health Organization. WHO Guidelines on Physical Activity and Sedentary Behaviour. 2020 [Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/336656/9789240015128-eng.pdf?sequence=1>.]
20. World Health Organization. WHO Guidelines on Physical Activity, Sedentary Behaviour and Sleep for Children Under 5 Years of Age. 2019 [Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/311664/9789241550536-eng.pdf?sequence=1>.]
21. Koziol-Kozakowska A, Wojcik M, Herceg-Čavrak V, et al. Dietary Strategies in the Prevention and Treatment of Hypertension in Children and Adolescents: A Narrative Review. *Nutrients*. 2024;16(16). doi: 10.3390/nu16162786.

Adresa za dopisivanje:

Izv. prof. dr. sc. **Vesna Herceg-Čavrak**, dr. med.
Fakultet zdravstvenih znanosti
Libertas međunarodno sveučilište
Trg J. F. Kennedy 6B
10000 Zagreb
Hrvatska
e-mail: vherceg@gmail.com

SUMMARY

From obesity to hypertension: how to prevent cardiovascular diseases at an early age

Vesna Herceg-Čavrak

The global rise in obesity among children and adolescents represents one of the most significant public health challenges of the 21st century. This epidemic contributes to a substantial increase in the prevalence of primary hypertension, type 2 diabetes, dyslipidemia, and metabolic syndrome in childhood and adolescence, thereby laying the foundation for the premature development of cardiovascular diseases in adulthood. Risk factors for the development of hypertension include the degree and duration of obesity, high salt intake, sedentary lifestyle, inadequate physical activity, and socioeconomic status. The mechanisms linking obesity and hypertension involve the activation of the sympathetic nervous system, dysfunction of the renin-angiotensin-aldosterone system, sodium retention, adipocyte dysfunction, and a chronic inflammatory state. Key prevention strategies include lifestyle modifications, physical activity, and dietary measures, with weight loss being crucial for reducing arterial pressure. Early intervention and a multidisciplinary approach to preventing obesity and hypertension in childhood are essential for reducing the risk of cardiovascular diseases and target organ damage in later life, ensuring a healthier cardiovascular profile.

Key words: OBESITY; HYPERTENSION; HEART DISEASE RISK FACTORS; PREVENTION&CONTROL; CHILD

Pregled aktualnosti iz pedijatrijske kardio-onkologije

Maja Batinica*

Poboljšana dijagnostika i metode liječenja rezultirale su značajnim poboljšanjem preživljenja djece s malignim bolestima, te raste udjel odraslih osoba koje su u djetinjstvu bile onkološki bolesnici. No, poboljšano preživljenje prati povećana stopa pridruženih dugoročnih komplikacija terapije. Ta stanja uključuju sekundarne tumore, endokrine poremećaje, kardiopulmonalnu disfunkciju, renalnu disfunkciju, te neurosenzorna oštećenja. Kardiovaskularne komplikacije su vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta u dugoročnom preživljenju pedijatrijskog maligniteta, odmah nakon relapsa onkološke bolesti. Razni kemoterapeutici se povezuju s raznim kardiovaskularnim komplikacijama. Poznata je jaka povezanost ovisna o dozi između antraciklinske kemoterapije i rizika srčanog zatajenja, a rizik je veći uz dodatnu izloženost zračenju prsišta. Spektar kardiovaskularne toksičnosti povezane s onkološkim liječenjem obuhvaća: asimptomatsku i simptomatsku kardijalnu disfunkciju (srčano zatajenje), miokarditis, asimptomatsku i simptomatsku vaskularnu toksičnost, arterijsku hipertenziju, te srčane aritmije. Stoga su razvijeni protokoli za praćenje pacijenata prije, za vrijeme i po završetku onkološke terapije, no za pedijatrijsku populaciju nedostaju univerzalnije smjernice, što rezultira značajnom varijabilnosti u praksi. Od slikovnog monitoringa, ehokardiografija je zlatni standard zbog široke dostupnosti i neštetnosti. Subklinička kardiotoksičnost se može otkriti uporabom serumskih biomarkera - troponina i NT-proBNP-a. Brzo rastuće polje pedijatrijske kardio-onkologije trebalo bi prijeći na proaktivniji pristup; suradnja između pedijatrijskih kardiologa i onkologa i drugih specijalnosti ključna je za bolje razumijevanje, liječenje i ako je moguće, prevenciju srčanih bolesti u pedijatrijskih onkoloških bolesnika.

Ključne riječi: ANTRACIKLINI; KARDIOTOKSIČNOST; PEDIJARIJA; KARDIOLOGIJA-ONKOLOGIJA; PROCJENA RIZIKA; EHOKARDIOGRAFIJA

Poboljšana dijagnostika i metode liječenja rezultirale su značajnim poboljšanjem preživljenja djece s malignim bolestima, te raste udjel odraslih osoba koje su u djetinjstvu bile onkološki bolesnici. No, poboljšano preživljenje prati povećana stopa pridruženih dugoročnih komplikacija terapije. Ta stanja uključuju sekundarne tumore, endokrine poremećaje, kardiopulmonalnu dis-

funkciju, renalnu disfunkciju, te neurosenzorna oštećenja. Kardiovaskularne komplikacije su vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta u dugoročnom preživljenju pedijatrijskog maligniteta, odmah nakon relapsa onkološke bolesti. Utvrđeno je da preživjeli od malignoma u djetinjstvu imaju 15 puta povećan rizik razvoja srčanog zatajenja i 7 puta veći rizik preuranjene smrti uslijed

*Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klinika za pedijatriju, Klaićeva 16, 10000 Zagreb

srčanih uzroka u usporedbi s općom populacijom (1, 2).

EVOLUCIJA PEDIJATRIJSKE KARDIO-ONKOLOGIJE KAO DISCIPLINE

Nakon uvođenja antraciklina u liječenje malignoma u 1960-im godinama učinjeni su prvi koraci u prepoznavanju miokardijalne toksičnosti nakon kemoterapije. Početkom 1990-ih formulirane su pedijatrijske smjernice za slikovno dijagnostičko praćenje djece podvrgnute kemoterapiji (3). Slijedi uzlet znanstvenih priopćenja i istraživanja vezanih za praćenje kardiotoksičnosti, uključujući napredne slikovne tehnike, lijekove i serumske biomarkere za stratifikaciju onkoloških pacijenata pod rizikom razvoja srčane bolesti.

Kardio-onkologija je nova medicinska disciplina oformljena s ciljem da se onkološki pacijenti liječe na najbolji mogući način sigurno, minimizirajući kardiovaskularnu toksičnost povezanu s onkološkim liječenjem tijekom čitavog kontinuuma onkološke skrbi. Kardiovaskularna toksičnost povezana s onkološkim liječenjem je dinamična varijabla na koju tijekom vremena utječe više čimbenika: dob, vrsta onkološke terapije, preegzistirajući kardiovaskularni rizični čimbenici ili kardiovaskularna bolest, kao i kardiotoksičnost ranije onkološke terapije. Prije onkološkog liječenja pacijenti se prema potencijalnom riziku od razvoja kardiovaskularnih komplikacija stratificiraju u one grupe niskog, umjerenog, visokog i vrlo visokog rizika, što određuje dinamiku daljnjeg praćenja, odnosno kardiološkog nadzora. Pristup treba biti individualiziran kako bi se minimizirao rizik kardiovaskularne toksičnosti, te poboljšao onkološki i kardiovaskularni ishod. Izbor kardioloških pretraga (EKG, biomarkeri, slikovna dijagnostika) treba biti individualno isplaniran na temelju postojećeg kardiovaskularnog rizika pacijenta i planiranog onkološkog liječenja. Zadnjih godina kliničke smjernice iz kardio-onkologije se sve više pomiču od liječenja bolesti prema prevenciji i kvaliteti života.

Kardio-onkologija je subspecijalnost koja zadnjih godina doživljava veliki rast i razvoj. Vodeći princip kardio-onkologije je integracija, te kardio-onkološki pružatelji usluga moraju imati široko znanje kardiologije, onkologije i hematologije. Komunikacija između raznih zdravstvenih stručnjaka je

ključna za optimizaciju skrbi onkoloških bolesnika s kardiovaskularnom disfunkcijom. Za bolesnike koji razviju kardiovaskularnu disfunkciju povezanu s onkološkom terapijom potrebno je razmatranje multidisciplinarnog tima glede koristi, odnosno rizika od prekida onkološke terapije.

RAZVOJ STANDARDIZIRANE PRAKSE KARDIOLOŠKOG PRAĆENJA PACIJENATA

Primarni cilj kardiološkog nadzora onkoloških pacijenata je otkriti rane znakove potencijalno reverzibilnog srčanog oštećenja i smanjiti rizik progresije od asimptomatske do klinički očite srčane bolesti. Prve smjernice Europskog kardiološkog društva (ESC, engl. *European Society of Cardiology*) objavljene su 2022. godine i pružaju definicije, te uputstva za dijagnozu, liječenje i prevenciju kardiovaskularne toksičnosti povezane s onkološkom terapijom, te vođenje kardiovaskularne bolesti direktno ili indirektno uzrokovane onkološkom bolesti (4). U tim je smjernicama naglašeno da se terapijske odluke trebaju temeljiti na multidisciplinarnoj suradnji između kardiologa, onkologa i pacijenta i njegove obitelji.

S izuzetkom uputa za praćenje odraslih koji su preživjeli onkološku bolest u djetinjstvu, nedostaje literature temeljene na dokazima sa smjernicama za probir i vođenje kardioloških bolesti u djece i adolescenata kojima je u tijeku onkološko liječenje, te u onih koji su preživjeli onkološko liječenje a još su pedijatrijske dobi. Prve preporuke za kardiološko praćenje djece tijekom i nakon antraciklinske terapije objavili su 1992. Steiner i sur. (3). Novije sveobuhvatne smjernice za kliničare uključene u kardio-onkološku skrb pedijatrijskih onkoloških bolesnika objavili su australski i novozelandski stručnjaci Delphi konsenzusom (5). U njima se nalaze upute za procjenu, probir i praćenje kardiovaskularnih bolesti za pedijatrijske pacijente podvrgnute onkološkom liječenju s novim molekularnim terapijama, imunoterapijom, kemoterapijom i zračenjem. Dodatno, nedavno objavljene smjernice Američkog društva za ehokardiografiju pružaju detaljna uputstva kako učiniti ehokardiografski pregled, koje parametre koristiti u kliničkom odlučivanju te okolnosti koje treba razmotriti za dodatne slikovne modalitete, poput magnetske rezonance (MRI) i kompjutorizirane tomografije (CT) (6).

Dok je fokus glede pedijatrijske kardiotoksičnosti većinom usmjeren na kasne kardiovaskularne komplikacije koje se zbivaju tijekom dugoročnog praćenja preživjelih, postoje i akutne kardiovaskularne komplikacije - javljaju se tijekom i brzo iza onkološkog liječenja te komplikacije s ranim početkom koje se javljaju unutar jedne godine od onkološkog liječenja. Manifestiraju se kao aritmije, prolazna ili progresivna sistolička disfunkcija lijeve klijetke, miokarditis, perikarditis, vaskularne komplikacije, poput hipertenzije ili ishemije. Akutne toksičnosti u djece uključuju prolazne, većinom subkliničke aritmije te subkliničke poraste troponina povezane s miokardijalnom ozljedom.

Kardiološko longitudinalno praćenje onkoloških bolesnika započinje probirom, s ciljem otkrivanja pacijenata s rizikom ili onih koji već imaju određenu kardiološku problematiku prije ili tijekom onkološke terapije. Rizik razvoja srčane bolesti povezane s onkološkom terapijom može biti određen vrstom malignoma, terapijskim značajkama, komorbiditetima pacijenta, bazičnim kardiovaskularnim statusom, obiteljskim kardiovaskularnim osobinama te oštećenjem ostalih organa. Sve to treba imati na umu kod individualne procjene rizika. Visokorizičnim onkološkim bolesnicima koje treba nadzirati tijekom akutnog liječenja smatraju se oni koji su primili visoku dozu zračenja - ≥ 35 Gy; oni koji se liječe kombinirano bilo kojom antraciklinskom dozom i barem 15 Gy zračenja u području srca; oni koji su primili ili kod kojih se planira primjena kumulativne doze ekvivalenta doksorubicina ≥ 250 mg/m².

Tipična obrada uključuje elektrokardiografiju, kardiovaskularnu slikovnu dijagnostiku - uobičajeno ehokardiografiju, ali i MR srca, te srčane biomarkere - troponin i NT-proBNP. Slabo je definirana veličina srčanog oštećenja koja predstavlja kontraindikaciju za nastavak onkološkog liječenja.

Poznata je jaka povezanost ovisna o dozi između antraciklinske kemoterapije i rizika srčanog zatajenja, a rizik je veći uz dodatnu izloženost zračenju prsišta.

Tradicionalno, kardiotoksičnost se definira ehokardiografski kad nastupi smanjenje od 10 % frakcije skraćenja lijeve klijetke (LVEF) ili je LVEF < 55 % i/ili je nenormalno niska frakcija skraćenja (FS) (3). No za pretkliničko stanje remodeliranja miokarda

potrebni su moderniji slikovni modaliteti - 3D ehokardiografija, strain analiza i MR srca.

Dijastolička disfunkcija se opisuje kao rani ehokardiografski nalaz, prije manifestne sistoličke disfunkcije, u djece liječene antraciklinima i zračenjem. Abnormalno je zadebljana stijenka ventrikula, smanjena je elastičnost uslijed propadanja miocita i fibroze, dok disfunkcija endotela kompromitira perfuziju miokarda i promovira sistemsku arterijsku hipertenziju. Rani i subklinički stadiji dijastoličke disfunkcije triggeriraju kompenzatorni porast NT-proBNP-a i srčane frekvencije. Tako da se pritom može razmotriti beta-blokerska terapija, kako bi se izbjegla progresija u ozbiljniji stadij.

U slučaju sistoličke disfunkcije, prvenstveno lijevog ventrikula, u terapiji se koriste standardno beta-blokatori, ACE-inhibitori (inhibitori angiotenzin-konvertirajućeg enzima) i ARB-ovi (blokatori angiotenzinskih receptora).

Vaskularna se toksičnost, putem razvoja endotelijalne disfunkcije i vaskularnog hiperkontraktiliteta, manifestira vaskularnom hipertenzijom, nefropatijom i bolesti koronarnih arterija. Arterijska hipertenzija (plućna i sistemska) predstavlja značajan uzrok morbiditeta i mortaliteta, s implikacijama u cerebrovaskularnim incidentima, koronarnoj bolesti srca, perifernoj arterijskoj bolesti, srčanom zatajenju, te bubrežnoj bolesti. Uz multidisciplinarni pristup, liječi se prema postojećim smjernicama.

Česti su i intrakardijalni, venski i arterijski tromboembolijski incidenti.

ANTRACIKLINSKA KEMOTERAPIJA

Antraciklinska kemoterapija (KT) je prvotno opisana 1967. i najviše je proučavana kardiotoksična KT. No svi pacijenti koji su podvrgnuti onkološkoj terapiji su pod povećanim rizikom od razvoja kardiotoksičnih neželjenih učinaka, neovisno o vrsti liječenja.

Antraciklini mogu uzrokovati hipokinetsku progresivnu kardiomiopatiju, rezultirajući krajnjim srčanim zatajenjem. Najjači rizični čimbenik za antraciklinsku kardiomiopatiju, predominantno restriktivnu, je kumulativna doza koju je bolesnik

primio tijekom liječenja; doze manje od 100 mg/m² ne povećavaju značajno rizik od razvoja iste.

Antraciklinima potaknuta srčana disfunkcija je ovisna o kumulativnoj dozi, varijabilnog je početka i može biti asimptomatska i simptomatska. Učestalost praćenja putem EKG-a, transtorakalne ehokardiografije i srčanih biomarkera ovisi o procjeni kardiovaskularnog rizika (niski, umjereni, visoki/vrlo visoki) u pojedinog bolesnika.

Akutni nastup kardiotoksičnosti uzrokovan antraciklinima je rijedak; javlja se unutar tjedan dana od administracije antraciklina i često je reverzibilan uz prekid terapije. Rani početak kronične kardiotoksičnosti javlja se unutar jedne godine od administracije, a kasni početak kronične kardiotoksičnosti više od jedne godine od davanja antraciklina. U kroničnim oblicima bolest je općenito progresivna.

U bolesnika koji razviju tešku simptomatsku srčanu disfunkciju povezanu s antraciklinskom kemoterapijom preporučuje se prekid antraciklinske terapije. Rijetko se može razmotriti ponovni pokušaj davanja antraciklina, uz postojeće preventivne strategije, te temeljiti nadzor uz svaki ciklus antraciklinske KT.

U bolesnika koji razviju umjerenu simptomatsku srčanu disfunkciju preporučuje se privremeni prekid antraciklinske KT, kao i u pacijenata koji razviju umjerenu ili tešku asimptomatsku srčanu disfunkciju. U bolesnika koji razviju blagu simptomatsku srčanu disfunkciju multidisciplinarni tim treba razmotriti prekid ili nastavak antraciklinske KT.

U bolesnika koji tijekom antraciklinske KT razviju simptomatsku ili umjerenu i tešku asimptomatsku srčanu disfunkciju srčano zatajenje se liječi po mjerodavnim smjernicama. U slučaju blage asimptomatske srčane disfunkcije potrebno je razmotriti liječenje ACE-inhibitorima, ARB-ovima i/ili beta-blokatorima ne prekidajući antraciklinsku KT u tijeku.

U literaturi se naglašava važnost djelotvornog učinka aerobnog vježbanja prije i tijekom antraciklinske KT koje se preporučuje i onkološkim bolesnicima sa srčanom disfunkcijom - primjerenim intenzitetom (4).

Ako se u bolesnika koji su razvili blagu do umjerenu simptomatsku srčanu disfunkciju ili umjerenu do jaku asimptomatsku srčanu disfunkciju na-

stavlja antraciklinska KT, po oporavku funkcije lijeve klijetke uz primjerenu terapiju, na raspolaganju su sljedeće onkološke strategije uz nastavak kardijalne terapije: smanjenje doze antraciklinske KT, zamjena konvencionalnih s liposomalnim antraciklinskim preparatima, te premedikacija s deksrazoksanom prije svakog sljedećeg ciklusa antraciklinske KT.

RADIOTERAPIJA

Radioterapija povećava rizik razvoja kardiovaskularne bolesti i periferne arterijske bolesti. Srce se smatra radiosenzitivnim organom pod rizikom tijekom radioterapije i s obzirom na to da nema „sigurne doze“ izloženost srca radijaciji treba biti što je moguće manja. Kategorizacija rizika radioterapijom-inducirane kardiovaskularne toksičnosti temeljena na srednjoj srčanoj dozi (MHD, engl. *Mean heart dose*) preferira se nad onom izraženom putem propisane doze koja ne mora točno reflektirati izloženost srca zračenju (npr. 35 Gy propisane doze za približno 70 % srca je ekvivalent cca 25 Gy srednje srčane doze, dok 35 Gy propisane doze za približno 40 % srca je ekvivalent cca 15 Gy MHD). Ipak, MHD nije metrički idealni parametar, te u pojedinim pacijenata vrlo mali dio srca može biti ozračen visokom dozom zračenja, s posljedičnim značajnim rizikom unatoč maloj MHD. Rizik mogu povećati pacijentovi dodatni rizični čimbenici, kao i sinergistički učinci drugih modaliteta onkološke terapije (primjerice antraciklinska terapija). Visoki rizik zračenja nosi >30 Gy ukupne izloženosti, odnosno >15 Gy direktne izloženosti srca (7). Alternativno korištenje protonske terapije može poštediti srce izloženosti zračenju, te posljedično smanjiti rizik kardiotoksičnosti.

TRANSPLANTACIJA HEMATOPOETSKIH MATIČNIH STANICA

Bolesnici liječeni transplantacijom matičnih stanica se smatraju populacijom visokog rizika za razvoj kardiovaskularne toksičnosti. U ranoj fazi nakon transplantacije (<100 dana) može se očekivati fibrilacija atriya, hipertenzija, hipotenzija, srčana insuficijencija, perikardijalni izljevi, te venska tromboembolija. Kasna toksičnost uključuje šećernu bolest, dislipidemiju, metabolički sin-

Tablica 1. Antraciklinske ekvivalentne doze (4)

	Doksorubicin	Epirubicin	Daunorubicin	Mitoksantron	Idarubicin
Omjer doze KV toksičnosti*	1	0.8	0.6	10.5	5
Izoekvivalentna doza (mg/m ²)	100	125	167	9.5	20

* Omjer doze kardiovaskularne (KV) toksičnosti označava vrijednost koju treba pomnožiti s dozom pojedinog antraciklina da bi se pretvorila u izoekvivalentnu dozu doksorubicina; npr. da bi se 125 mg/m² epirubicina pretvorilo u izoekvivalent doksorubicina pomnoži se s 0.8 (125 mg/m² x 0.8 = 100 mg/m² doksorubicina).

drom, hipertenziju, srčano zatajenje, bolest koronarnih arterija, poremećaje provođenja, te perikardijalni izljev. Akutna bolest presatka protiv domaćina (GVHD, engl. *Graft versus host disease*) je povezana s trombozom i upalnim oštećenjem miokarda (miokarditis, srčana insuficijencija, poremećaji provođenja, aritmije, te perikardijalni izljev), dok je kronična GVHD povezana s povećanim rizikom od hipertenzije, šećerne bolesti i dislipidemije.

Srčane aritmije potaknute onkološkom terapijom

Riječ je o važnom obliku kardiotoksičnosti koji se može razviti akutno ili kao kasna toksičnost i imati značajne implikacije na ukupni pobol i smrtnost. Aritmije mogu nastati primarno zbog terapijom potaknute modifikacije molekularnih putova kritičnih za nastupa aritmije ili sekundarno uslijed oštećenja srčanog tkiva. Antraciklini, primjerice, pogoduju nastupu supraventrikulske tahiaritmije (SVT), dok neke druge vrste kemoterapije, moguće također antraciklini, produžuju QT (QTc) interval, te posljedično povećavaju rizik od tahiaritmije tipa *torsade de pointes*. Na QT-interval treba posebno obratiti pažnju pri analizi EKG-a, s obzirom na razne druge lijekove koje ti bolesnici uzimaju, a na listi su onih lijekova koji ga produžuju (primjerice određeni antiemetici).

Arterijska hipertenzija

U onkoloških bolesnika arterijska hipertenzija može biti uzrokovana njihovom onkološkom terapijom, drugim lijekovima (npr. kortikosteroidima, nesteroidnim protuupalnim lijekovima), te drugim čimbenicima, uključujući stres, bol, oštećenje bubrega, debljinu, smanjenu tjelesnu aktivnost. Neliječena hipertenzija je potvrđeni rizični čimbenik srčanog zatajenja tijekom antraciklinskog liječenja.

Nema dokaza o dugoročnoj dobrobiti preventivne ACE-inhibicije u pedijatrijskih onkoloških bolesni-

ka. AHA internističke smjernice preporučuju liječenje s ACE-inhibitorima za simptomatske pacijente s EF <50 % (4).

Pravovremenim i učinkovitim terapijskim opcijama balansira se između učinkovitosti onkološkog liječenja i srčanog oštećenja povezanog s onkološkom terapijom. Ponekad su teške odluke vezane za odnos rizika i dobrobiti učinkovitog onkološkog liječenja s jedne strane i ozbiljne kardiovaskularne toksičnosti povezane s onkološkim liječenjem s druge strane.

PREVENCIJA

Primarna prevencija obuhvaća opsežnu procjenu rizičnih čimbenika za komorbiditete, edukaciju i savjetovanje, primjerice o zdravoj prehrani, održanju primjerene tjelesne mase, profilu GUK-a, lipida; fizičkoj i nutritivnoj rehabilitaciji. U slučaju razvijene kardiotoksičnosti i važnosti nastavka kemoterapije, u obzir dolazi preporuka o alternativnim antraciklinskim formulacijama, kao što su liposomalni pripravci. Manji kardiotoksični učinak liposomalnih formulacija se pripisuje veličini kemijskih komponenti koja ograničava difuziju kroz endotel miokardijalne mikrovaskulature. Dodatno, antraciklini primijenjeni putem spore infuzije umjesto bolusa manje se akumuliraju u miokardu.

KARDIOPROTEKTIVNA TERAPIJA

Za sada je deksrazoksan jedini kardioprotektivni preparat koji se koristi u pedijatrijskoj onkologiji.

Deksrazoksan je kelatni pripravak koji smanjuje stvaranje željezom-induciranih slobodnih radikala i potiče razgradnju topoizomerase 2β, na taj način reducirajući antraciklinsko oštećenje miokarda i endotela. Često je dio protokola liječenja za one bolesnike kod kojih se očekuje primjena kumulativne doze antraciklinskog ekvivalenta doksorubicina ≥250 mg/m², prag koji, dokazano u brojnim

studijama, povezan s najvećim rizikom od posljedične kardiotoksičnosti (8, 9). U Tablici 1. su prikazane ekvivalentne doze pojedinih antraciklina uporabom doksorubicina kao reference. Značajna je kumulativna antraciklinska doza i doza od ≥ 250 mg/m² doksorubicina ili ekvivalenta koja značajno povećava rizik kardiotoksičnosti.

Literatura ne preporučuje njegovu primjenu kod pacijenata s niskim rizikom za razvoj kardiomiopatije, kao i u onih koji primaju liposomalne antracikline. Jedinstveni je stav da ga treba dati pacijentima koji primaju kumulativnu dozu ≥ 250 mg/m² ekvivalenta doksorubicina zbog visokog rizika za razvoj kardiomiopatije. Ipak ne treba se olako davati zbog mogućeg smanjenja učinka antraciklinske terapije, te rizika od sekundarnih tumora. U pedijatrijskoj se populaciji zagovara njegova primjena ukoliko je kumulativna doza antraciklina >150 mg/m² ili se bilo koja doza antraciklina kombinira s radioterapijom. Dugoročno praćenje upućuje na zaključak da nema značajno povećanog rizika kardiotoksičnosti za antraciklinske doze <100 mg/m². U kliničkoj praksi infuzija deksrazoksana (omjer doze deksrazoksana/doksorubicin je 10/1, npr. 500 mg/m² deksrazoksana za 50 mg/m² doksorubicina) daje se barem 30 minuta prije svakog antraciklinskog ciklusa.

Toro i sur. su predložili praktične smjernice za uporabu deksrazoksana, ovisno o kumulativnoj antraciklinskoj dozi (0-100 mg/m²; 100-250 mg/m²; ≥ 250 mg/m²), dobi djeteta većoj ili manjoj od 5 godina te dodatnom zračenju područja srca (više ili manje od 15 Gy) (5).

KARDIOVASKULARNA EVALUACIJA TIJEKOM PRVE GODINE NAKON KARDIOTOKSIČNE ONKOLOŠKE TERAPIJE

U visokorizične pacijente nakon dovršenja svoje kardiotoksične onkološke terapije ubrajaju se oni s odgovarajućom kliničkom slikom, oni s već tijekom onkološkog liječenja manifestiranom kardiotoksičnošću, oni s povišenim srčanim biomarkerima i/ili odstupajućim slikovnim kardiovaskularnim nalazima tijekom praćenja. Srčani serumski biomarkeri (troponin, NT-proBNP) imaju visoku negativnu prediktivnu vrijednost za buduće kardiovaskularne događaje. U prospektivnoj studiji 2625

odraslih onkoloških pacijenata kojima je mjerena LVEF nakon antraciklinske KT, ukupna incidencija srčane disfunkcije povezane s KT bila je 9 - 98 % slučajeva. Svi slučajevi su otkriveni unutar 12 mjeseci od KT, a medijan od KT do detekcije je bio 3,5 mjeseca (7). Klinički učinak na terapiju ACE-inhibitorima bio je slabiji ako je proteklo više vremena od završetka KT do detekcije srčane disfunkcije. Potpuni oporavak LVEF izostao je u pacijenata kod kojih je terapija započeta s odgodom od više od 6 mjeseci (8).

Preporučuje se edukacija onkoloških pacijenata glede njihovog povećanog kardiovaskularnog rizika te posljedično oko zdravog stila življenja.

DUGOROČNO PRAĆENJE I KRONIČNE KARDIOVASKULARNE KOMPLIKACIJE ODRASLIH KOJI SU IMALI ONKOLOŠKU BOLEST U DJETINJSTVU I ADOLESCENCIJI

Tijekom zadnjih desetljeća je značajno poraslo preživljenje djece i adolescenata s onkološkom bolešću, te su u fokusu interesa dugoročne posljedice na zdravlje u rastućoj populaciji preživjelih od onkološke bolesti u djetinjstvu i adolescenciji. Spoznaja o naknadno razvijenim zdravstvenim komplikacijama u preživjelih od malignoma u djetinjstvu nametnula je potrebu periodičnog zdravstvenog nadzora. Među najpoznatijima su kasne kardiovaskularne toksičnosti koje su postale vodeći uzrok smrti neznan za malignom. Kardiovaskularna toksičnost povezana s onkološkim liječenjem kao posljedica primjerice antraciklinske KT i/ili radioterapije u predjelu prsišta može se manifestirati kao srčana disfunkcija - sistolička disfunkcija lijeve klijetke, ali i kao valvularna srčana bolest, bolest koronarnih arterija, aritmija, autonomna disfunkcija, perikardijalna bolesti i preuranjena kardiovaskularna smrtnost, ovisno o vrsti kardiotoksične terapije. Praćenje se preporučuje na temelju stratifikacije rizika uslijed ukupne kumulativne doze antraciklinske KT i doze zračenja. Progresivna kardiovaskularna toksičnost povezana sa zračenjem tipično se razvija 5-10 godina nakon početnog liječenja i može uzrokovati koronarnu bolest srca i srčano zatajenje do 6x češće nego u općoj populaciji (10-13).

Valvularna srčana bolest se može pojaviti bilo kada nakon onkološkog liječenja, a tipično se javlja nakon 10 i više godina. Glavni rizični čimbenik za nju je zračenje prsišta koje može uzrokovati stenozu, regurgitaciju ili oboje.

Sadašnje smjernice preporučuju probir na metabolički sindrom (MS) kao dio probira na kasne učinke onkološkog liječenja.

ZAKLJUČAK

U proteklih 20-ak godina preživljenje bolesnika s malignim bolestima poboljšano je napredovanjem kemoterapijskih protokola, uvođenjem ciljanog biološkog liječenja, imunoterapije, poboljšanjem kirurgije, radioterapije kao i novih metoda interventne radiologije. Agresivniji protokoli liječenja, međutim, često uzrokuju oštećenja drugih organa, uključujući i kardiovaskularni sustav, tako da incidencija kardiovaskularne toksičnosti kontinuirano raste. Kardiovaskularne komplikacije razvijene tijekom i nakon onkološkog liječenja značajan su izazov koji ugrožava dugoročno zdravlje ove rastuće kohorte pacijenata. Rizik od kardiovaskularne toksičnosti je dinamična varijabla. Svim onkološkim bolesnicima za koje se planira potencijalna kardiotoksična terapija preporučuje se bazična procjena kardiovaskularnog rizika - prije početka predviđene terapije. Time se omogućava onkološkom timu izbor primjerene onkološke terapije, te individualizirano planiranje kardiovaskularnog praćenja.

Onkološki bolesnici s povećanim rizikom zahtijevaju multidisciplinarni pristup i redovito kardiološko praćenje kako bi se na vrijeme prepoznali i adekvatno liječili kardiovaskularni neželjeni učinci. Na taj se način postiže poboljšanje kliničkih ishoda i kvalitete života, a ako je moguć i optimalni nastavak specifičnog onkološkog liječenja.

LITERATURA

- Oeffinger KC, Mertens AC, Sklar CA, Kawashima T, Hudson MM, Meadows AT, et al. Chronic health conditions in adult survivors of childhood cancer: Childhood Cancer Survivor Study. *N Engl J Med*. 2006;355:1572-82.
- Armstrong GT, Liu Q, Yasui Y, Neglia JP, Leisenring W, Robison LL, Mertens AC. Late mortality among 5-year survivors of childhood cancer: a summary from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol*. 2009;27:2328-38.
- Steinherz LJ, Graham T, Hurwitz R, Sondheimer HM, Schwartz RG, Shaffer EM, et al. Guidelines for cardiac monitoring of children during and after anthracycline therapy: report of the Cardiology Committee of the Children's Cancer Study Group. *Pediatrics*. 1992;89:942-9.
- Lyon AR, López-Fernández T, Couch LS, Asteggiano R, Aznar MC, Bergler-Klein J, et al. 2022 ESC Guidelines on cardio-oncology developed in collaboration with the European Hematology Association (EHA), the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO), and the International Cardio-Oncology Society (IC-OS). *Eur Heart J*. 2022;43:4229-61.
- Toro C, Felmingham B, Jessop S, Celermajer DS, Kotecha RS, Govender D, et al. Cardio-oncology recommendations for pediatric oncology patients: an Australian and New Zealand Delphi consensus. *JACC Adv*. 2022;1:100155.
- Mertens L, Singh G, Armenian S, Chen MH, Dorfman AL, Garg R, et al. Multimodality imaging for cardiac surveillance of cancer treatment in children: Recommendations from the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 2023;36:1227-53.
- Darby SC, Cutter DJ, Boerma M, Constine LS, Fajardo LF, Kodama K, et al. Radiation-related heart disease: current knowledge and future prospects. *Int J Radiat Oncol*. 2010;76:656-65.
- Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, Tedeschi I, Meroni CA, Veglia F, et al. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. *Circulation*. 2015;131(22):1981-8.
- Cardinale D, Colombo A, Lamantia G, Colombo N, Civelli M, De Giacomo G, et al. Anthracycline-induced cardiomyopathy: clinical relevance and response to pharmacologic therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(3):213-20.
- Haddy N, Diallo S, El-Fayeh C, Schwartz B, Pein F, Hawkins M, et al. Cardiac diseases following childhood cancer treatment: Cohort Study. *Circulation*. 2016;133(1):31-8.
- Armenian SH, Hudson MM, Mulder RL, Chen MH, Constine LS, Dwyer M, et al.; International Late Effects of Childhood Cancer Guideline Harmonization Group. Recommendations for cardiomyopathy surveillance for survivors of childhood cancer: a report from the International Late Effects of Childhood Cancer Guideline Harmonization Group. *Lancet Oncol*. 2015;16(3):e123-36.
- van der Pal HJ, van Dalen EC, van Delden E, van Dijk IW, Kok WE, Gekus RB, et al. High risk of symptomatic cardiac events in childhood cancer survivors. *J Clin Oncol*. 2012;30(13):1429-37.
- Chow EJ, Leger KJ, Bhatt NS, Mulrooney DA, Ross CJ, Aggarwal S, et al. Paediatric cardio-oncology: epidemiology, screening, prevention, and treatment. *Cardiovasc Res*. 2019;115(5):922-34.

Adresa za dopisivanje:

prim. mr. sc. **Maja Batinica**, dr. med., spec. pedijatrije, subspecijalist pedijatrijske kardiologije
Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klinika za pedijatriju
Klaićeva 16, Zagreb
e-mail: mbatini2@gmail.com

SUMMARY

Pediatric cardio-oncology - review of current state

Maja Batinica

Improved diagnostics and treatment methods have resulted in significant improvements in the survival of children with malignant diseases, and the proportion of adults who were oncological patients in childhood is increasing. At the same time, improved survival is accompanied by an increased rate of associated long-term therapy complications. These conditions include secondary tumors, endocrine disorders, cardiopulmonary dysfunction, renal dysfunction, and neuro-sensory damage. Heart complications are a leading cause of death for childhood cancer survivors, second only to cancer relapse.

Various chemotherapeutic agents are associated with various cardiovascular complications. A strong dose-dependent association is known between anthracycline chemotherapy and the risk of heart failure, and the risk is higher with additional exposure to chest radiation. The spectrum of cardiovascular toxicity associated with oncological treatment includes: asymptomatic and symptomatic cardiac dysfunction (heart failure), myocarditis, asymptomatic and symptomatic vascular toxicity, arterial hypertension, and cardiac arrhythmias. In the pediatric population, there is a lack of guidelines aimed at prevention and treatment modalities, which results in substantial practice variability.

For imaging surveillance, echocardiography remains the mainstay because of its safety profile and widespread availability. Subclinical cardiotoxicity may be detected using laboratory biomarkers such as cardiac troponin and brain natriuretic peptide.

The rapidly growing field of pediatric cardio-oncology should shift to a more proactive approach. Collaboration between pediatric cardiologists, oncologists, and other specialists is crucial for better understanding, treatment, and, if possible, prevention of cardiac diseases in pediatric oncology patients.

Key words: ANTHRACYCLINES; CARDIOTOXICITY; PEDIATRICS; CARDIOLOGY-ONCOLOGY; RISK ASSESSMENT; ECHOCARDIOGRAPHY

Slobodna tema
Free topic

Od kapljice do rezultata: izazovi predanalitičke faze u pedijatriji

Leida Tandara*

Laboratorijsko testiranje neizostavan je dio dijagnostičkog procesa i obuhvaća tri faze: predanalitičku, analitičku i postanalitičku. Svaka od njih ima specifične izazove i može biti izvor potencijalnih pogrešaka koje utječu na rezultate analize. Istraživanja pokazuju da je predanalitička faza najkritičnija jer se u njoj događa najveći broj pogrešaka (1). Budući da ključnu ulogu u ovoj fazi igra nelaboratorijsko osoblje, uključujući medicinske sestre i liječnike, njihova edukacija i pridržavanje standardiziranih protokola presudni su za osiguranje točnih i pouzdanih rezultata.

IZAZOVI PREDANALITIČKE FAZE

Predanalitička faza obuhvaća niz koraka, uključujući ordiniranje pretraga, pripremu pacijenta, pravilno uzorkovanje i transport uzoraka. Svaka od ovih komponenti nosi potencijalne rizike koji mogu dovesti do grešaka u laboratorijskom testiranju (1). Neodgovarajuća priprema pacijenta, nepravilno uzorkovanje ili neadekvatno čuvanje uzoraka mogu značajno utjecati na rezultate analize te, posljedično, na donošenje kliničkih odluka.

U pedijatrijskoj populaciji, venepunkcija predstavlja poseban izazov i zahtijeva posebne vještine, obuku i iskustvo (2). Uzorkovanje u pedijatrijskoj populaciji, osobito kod novorođenčadi i nedonoščadi, zahtijeva posebnu pažnju zbog ograničenog volumena krvi koji se smije uzorkovati. Kod starije djece invazivni postupci mogu uzrokovati značajan stres, što dodatno otežava uzimanje uzoraka i može utjecati na rezultate nekih analiza. Stoga je važno koristiti minimalno invazivne metode, poput kapilarne punkcije, kada god je to moguće (3). Pri venepunkciji je nužan pravilan odabir igle kako bi se smanjila trauma tkiva i rizik od hemolize, dok imobilizacija djeteta i tehnike distrakcije igraju ključnu ulogu u smanjenju stresa i boli (4, 5).

UČESTALOST POGREŠAKA I NJIHOVI UZROCI

Jedna od posljedica otežanog uzimanja krvi je dobivanje hemoliziranih, zgrušanih i, posebice, uzoraka s nedovoljnim volumenom. Nedovoljan volumen uzorka u epruvetama s antikoagulan- som može dovesti do netočnih rezultata zbog razrjeđivanja uzorka i pogrešnog omjera krvi i antikoagulansa. Također, kod novorođenčadi, hemolizirani uzorci uzrokuju smetnje u mjerenju bilirubina.

Osim uzorkovanja krvi, prikupljanje urina također predstavlja izazov kod djece, budući da je često teško dobiti dovoljan volumen uzorka bez kontaminacije. Nepravilna manipulacija uzorcima

* Zavod za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku, KBC Split, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Spinčičeva 1, 21000 Split

može rezultirati lažno pozitivnim ili negativnim rezultatima, što može dovesti do pogrešne dijagnoze i nepotrebnih medicinskih intervencija.

RJEŠENJA I PREPORUKE ZA SMANJENJE POGREŠAKA

Kontinuirana edukacija medicinskog osoblja i standardizacija postupaka ključni su za smanjenje predanalitičkih pogrešaka i unaprjeđenje kvalitete laboratorijske dijagnostike (1). Bliska suradnja između kliničkih odjela i laboratorija omogućava pravovremeno prepoznavanje i rješavanje problema, optimizaciju protokola te poboljšanje skrbi za pedijatrijske pacijente.

Preporučene strategije uključuju:

- Primjenu minimalno invazivnih metoda uzorkovanja kad god je to moguće
- Korištenje mikrometoda kako bi se smanjio minimalni potrebni volumen uzorka
- Pravilnu tehniku venepunkcije s odabirom odgovarajuće igle
- Osiguravanje adekvatne imobilizacije djeteta i primjenu tehnika distrakcije
- Standardizaciju postupaka pripreme pacijenta i rukovanja uzorcima
- Kontinuiranu edukaciju zdravstvenog osoblja o pravilnim tehnikama uzorkovanja i rukovanju uzorcima.

ZAKLJUČAK

Kvalitetan laboratorijski uzorak ključan je za točnu dijagnozu i donošenje ispravnih kliničkih odluka. Predanalitička faza predstavlja najkritičniji segment laboratorijskog procesa, a njezino unaprjeđenje moguće je kroz multidisciplinarnu suradnju, edukaciju i primjenu standardiziranih postupaka. Smanjenjem predanalitičkih pogrešaka izravno se unaprjeđuje kvaliteta zdravstvene skrbi, smanjuje stres kod pedijatrijskih pacijenata i osigurava pouzdanost laboratorijskih rezultata. Cilj ovog predavanja je istaknuti važnost kvalitetnog uzorka u laboratorijskoj dijagnostici te potaknuti kontinuiranu edukaciju i multidisciplinarnu suradnju kako bi se osigurala najbolja moguća skrb za pedijatrijske pacijente.

Ključne riječi: PREDANALITIČKA FAZA; DIJAGNOSTIČKE POGREŠKE; PEDIJARIJA

LITERATURA

1. Nordin N, Ab Rahim SN, Wan Omar WFA, et al. Preanalytical errors in clinical laboratory testing at a glance: source and control measures. *Cureus*. 2024;16(3):e57243. doi: 10.7759/cureus.57243.
2. Hjelmgren H, Ygge BM, Nordlund B, Andersson N. Nurses' experiences of blood sample collection from children: a qualitative study from Swedish paediatric hospital care. *BMC Nurs*. 2022;21(1):62. doi: 10.1186/s12912-022-00840-2.
3. Hjelmgren H, Nilsson A, Myrberg IH, Andersson N, Ygge BM, Nordlund B. Capillary blood sampling increases the risk of preanalytical errors in pediatric hospital care: observational clinical study. *J Spec Pediatr Nurs*. 2021; 26(4):e12337. doi: 10.1111/jspn.12337.
4. Riddick L. Paediatric blood sampling: how to improve your chances of getting it right. *Paediatr Child Health*. 2023; 33:114-7. doi: 10.1016/j.paed.2023.01.006.
5. World Health Organization. WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy. Geneva: WHO; 2010. 6. Paediatric and neonatal blood sampling. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138647/>

Autor za dopisivanje:

Leida Tandara, mag. med. biochem.
Zavod za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku, KBC Split
Spinčičeva 1, 21000 Split
e-mail: ltandara@kbsplit.hr

SUMMARY

From a drop to the result: challenges of the pre-analytical phase in pediatrics

Leida Tandara

Laboratory testing is an essential part of the diagnostic process and consists of three phases: pre-analytical, analytical, and post-analytical. Each phase presents specific challenges and can be a source of potential errors that impact the final test results. Research shows that the pre-analytical phase is the most critical step, accounting for the highest number of errors (1). Since non-laboratory personnel, including nurses and physicians, play a key role in this phase, their education and adherence to standardized protocols are essential for ensuring accurate and reliable results.

CHALLENGES OF THE PRE-ANALYTICAL PHASE

The pre-analytical phase includes a series of steps, such as test ordering, patient preparation, proper sampling, and sample transport. Each of these components is a possible source of errors in the laboratory testing process (1). Inadequate patient preparation, improper sample collection, or inadequate sample storage can significantly impact test results and, consequently, clinical decision-making.

In the pediatric population, venipuncture presents a particular challenge and requires specific skills, training, and experience (2). Sample collection in pediatric patients, especially in newborns and preterm infants, demands special attention due to the limited blood volume that can be drawn. In older children, invasive procedures may cause significant stress, further complicating sample collection and potentially affecting the results of certain analyses. Therefore, it is essential to use minimally invasive methods, such as capillary puncture, whenever possible (3). Proper needle selection during venipuncture is crucial to minimize tissue trauma and the risk of hemolysis, while child immobilization and distraction techniques play a key role in reducing stress and pain (4, 5).

FREQUENCY AND CAUSES OF ERRORS

One of the consequences of challenging blood collection is the occurrence of hemolyzed, clotted, or insufficient sample volumes. An inadequate sample volume in anticoagulant-containing tubes can lead to inaccurate results due to sample dilution and an incorrect blood-to-anticoagulant ratio. Additionally, in neonates, hemolyzed samples can interfere with bilirubin measurement.

Beyond blood sampling, urine collection also presents challenges in pediatric patients, as obtaining a sufficient sample volume without contamination is often difficult. Errors in the pre-analytical phase can lead to false-positive or false-negative results, potentially resulting in misdiagnosis and unnecessary medical interventions.

STRATEGIES AND RECOMMENDATIONS FOR ERROR REDUCTION

Continuous education of healthcare professionals and the standardization of procedures are essential for minimizing pre-analytical errors and improving the accuracy and reliability of labo-

ratory diagnostics (1). Effective collaboration between clinical departments and laboratory services facilitates the timely identification and resolution of pre-analytical challenges, optimization of protocols, and overall enhancement of pediatric patient care.

Key recommendations include:

- Implementing minimally invasive sampling techniques whenever possible
- Utilizing micro-methods to minimize the required sample volume
- Ensuring proper venipuncture technique with appropriate needle selection to reduce tissue trauma and the risk of hemolysis
- Providing adequate patient immobilization and employing distraction techniques to minimize stress and discomfort
- Standardizing patient preparation protocols and specimen handling procedures
- Establishing continuous education and training programs for healthcare personnel on best practices in sample collection and management.

CONCLUSION

The quality of laboratory samples is essential for accurate diagnosis and appropriate clinical decision-making. The pre-analytical phase is the most critical component of the laboratory process, and its optimization requires a multidisciplinary approach, continuous education, and adherence to standardized protocols. Reducing pre-analytical errors directly improves health-care quality, minimizes stress in pediatric patients, and ensures the reliability of laboratory results.

The objective of this review is to emphasize the importance of high-quality samples in laboratory diagnostics and underscores the need for ongoing education and interdisciplinary collaboration to achieve the highest standard of care for pediatric patients.

Key words: PRE-ANALYTICAL PHASE; DIAGNOSTIC ERRORS; PEDIATRICS

In memoriam
In memoriam

Prof. dr. sc. Livio Balarin, dr. med. 1930.-2025.

Dana 6. ožujka 2025. godine napustio nas je prof. dr. sc. Livio Balarin, dr. med., naš učitelj, prijatelj i kolega te dobitnik nagrade Hrvatskog pedijatrijskog društva za životno djelo.

Prof. Balarin rođen je 23. lipnja 1930. u Korčuli. Višu gimnaziju je započeo pohađati u Splitu, a završio je u Sinju. Medicinski fakultet završio je u Zagrebu 1956. Bio je prvi liječnik novoosnovanog dječjeg dispanzera u Sinju gdje je do 1963. pokrenuo niz aktivnosti zdravstvenog prosvjećivanja, prevencije i pravovremenog liječenja što je dovelo do smanjenja mortaliteta dojenčadi te poboljšanja općeg zdravstvenog stanja djece. Specijalizaciju iz Pedijatrije počeo je u Općoj bolnici u Splitu 1963., a završio je 1966. i postao voditeljem Odsjeka za bolesti dojenčadi splitskog dječjeg odjela. Doktorat znanosti obranio je na Medicinskom fakultetu u Zagrebu 1976. Naziv primariusa stječe 1978., a 1980. Pedijatrijska sekcija Zbora liječnike Hrvatske ga imenuje subspecijalistom za zvanje – pedijatar nipiolog. Završio je poslijediplomsko usavršavanje iz medicinske genetike na Medicinskom fakultetu u Zagrebu 1978/79. Od 1967. sudjeluje na poslijediplomskom studiju u Splitu za liječnike na specijalizaciji iz opće, urgentne i školske medicine. Bio je predavač u Srednjoj školi za medicinske sestre primaljskog smjera od 1966., a predavač na Višoj školi za medicinske sestre od 1978. Sudjeluje u nastavi od osnutka Medicinskog studija u Splitu, Medicinskog fakulteta u Zagrebu, 1974. Za potrebe samostalnog Fakulteta Sveučilišta u Splitu 1983. izabran je za docenta, a 1999. za izvanrednog profesora.

Jedan je od osnivača Hrvatske proljetne pedijatrijske škole 1983., a voditelj od 1995. do 2003. Bio



je vizionar, organizator, voditelj, dobri duh bezvremenske, do sada neviđene takve Škole za edukaciju pedijataru, liječnika i medicinskih sestara koja se tijekom jednog tjedna u travnju održava svake godine u Splitu, sve do danas.

Objavio je mnoge stručne i znanstvene radove. Autor je više tekstova u sveučilišnim udžbenicima iz pedijatrije, a kourednik udžbenika Pedijatrija za više medicinske sestre. Uređivao je suplemente časopisa

Jugoslavenska pedijatrija i Paediatrica Croatica koji su objavljivali radove pozvanih predavača Hrvatske proljetne pedijatrijske škole.

Bio je član Akademije medicinskih znanosti Hrvatske i više stručnih društava. Od 1988. do umirovljenja 2002. bio je predstojnik Klinike za dječje bolesti KBC-a Split, a od 1997. prvi pročelnik Katedre za pedijatriju Medicinskog fakulteta u Splitu.

Prof. Livio Balarin je bio aktivan sportaš i sportski djelatnik. Dobitnik je mnogih priznanja, među kojima je nagrada Začasnog člana Hrvatskog liječničkog zbora, godišnja nagrada Županije splitsko-dalmatinske te nagrada grada Korčule za životno djelo.

Profesor Balarin je učio i odgajao mnoge generacije liječnika i pedijataru te svima ostao u sjećanju kao izvanredan stručnjak, a iznad svega dobar čovjek. Ožalošćeni smo jer nije više među nama, a sretni smo što smo imali priliku živjeti, učiti i raditi uz njega.

Prof. dr. sc. Vjekoslav Krželj, dr. med.

SPONZORI

Platinasti



Zlatni



Blueprint Genetics



Srebrni



SPONZORI



Brončani

B:OMARIN® **Baxter**



4U pharma
SWISS COMPANY



SALVUS



Ostali



**FRESenius
KABI**



TEHNOLOGIJA
Povjerenje za život



BIOELEKTRONIKA



Zračna luka



Split



Pokrovitelji



**SPLITSKO
DALMATINSKA
ŽUPANIJA**

Zahvale



Split
Tourist Board of Split
TURISTIČKA ZAJEDNICA



A full-page photograph of a family in a field of tall grass at sunset. A man stands on the left, holding a young child in the air. A woman sits on the right, smiling and holding a small flower. The sun is low on the horizon, creating a warm, golden glow and lens flare effects.

Always Ahead

MEDISON

Medison Pharma d.o.o
Strojarska cesta 22 | 10000 Zagreb
office.croatia@medisonpharma.com
www.medisonpharma.com

CRO-MDS-2025-28
Datum pripreme: siječanj 2025.



Vista 300

Rješenje za praćenje pacijenata

Dräger Vista 300 ključni je monitor za odrasle, pedijatrijske i neonatalne pacijente. Dio je proširivog sustava za praćenje pacijenata koji se sigurno uklapa u bolničku mrežu kako bi vam pružio pristup podacima u bilo koje vrijeme i optimizirao tijek rada. Vista 300 olakšava poboljšanu integraciju mjesta rada u područja akutne njege s opsežnim kompletom parametara i modula čime se poboljšavaju njega pacijenata i ishodi te smanjuju troškovi.

Dräger

Tehnika za život

Sjedište
Drägerwerk AG & Co. KGaA
Moislinger Allee 53-55
23558 Lübeck, Za Njemačku
www.draeger.com

Za Hrvatsku
Dräger Medical Croatia d.o.o.
Avenija Većeslava Holjevca 40
100 10 Zagreb
☎ +385 1 65 99 444
☎ +385 1 65 99 403
✉ prodaja.mt@draeger.com

Dräger - South East Europe
Regional Management
South East Europe
Perfektastrasse 67
A-1230 Wien, Austria
☎ +43 1 60 90 4809
☎ +43 1 69 94 597
✉ contactSEE@draeger.com

SeptoZINC

SNAŽNO ANTIBAKTERIJSKO I
ANTIVIRUSNO DJELOVANJE

- ➔ prevencija razvoja upalnih procesa
- ➔ dodatna terapija kod virusnih i bakterijskih infekcija oka

BEZ RECEPTA

NOVO



Unimed Pharma Marketing spol s r.o.,
Vrsluška 16, 10 000 Zagreb Tel: 01/3830047,
e-pošta: office@unimedpharma.hr, www.unimedpharma.hr

**UNIMED
PHARMA®**

IZGLEDA KAO RAHITIS
ALI NE ODGOVARA NA TERAPIJU ZA RAHITIS



Uputite bolesnika specijalistu za metaboličke koštane bolesti u odgovarajući pedijatrijski centar specijaliziran za metaboličke, endokrinološke, nefrološke ili koštane bolesti u skladu s lokalnim smjernicama

Imate li bolesnika koji ne odgovara na terapiju za nutritivski rahitis na očekivan način?

Možda ima i nizak rast,¹⁻⁵ zubne apscese,¹⁻⁵ abnormalnosti lubanje,¹⁻³ bol u kostima, zglobovima ili mišićima,¹⁻⁴ ili hipofosfatemiju.¹⁻⁵

Odmah ga uputite specijalistu radi postavljanja dijagnoze i ranog liječenja.

1. Haffner D et al. *Nat Rev Nephrol* 2019;15:435-455. 2. Beck-Nielsen SS et al. *Orphanet J Rare Dis* 2019;14:58.
3. Skrinar A et al. *J Endocr Soc* 2019;3:1321-1334. 4. Lo SH et al. *Qual Life Res* 2020;29:1883-1893.
5. Carpenter TO et al. *J Bone Miner Res* 2011;26:1381-1388.



Swixx Biopharma d.o.o.
Ulica Damira Tomljanovića - Gavrana 15 | 10000 Zagreb | +385 1 2078 500
PM-HR-2024-1-315; Datum odobrenja materijala: 2/2024



SAMO ZA ZDRAVSTVENE RADNIKE

Stabilna temperatura, siguran početak



*Atopijska koža?
Nježna koža.*

*Za
svakodnevnu
upotrebu*

**Vlaži i štiti od
ponovne pojave suhe
kože do 3 mjeseca***

**90% sastojaka
prirodnog podrijetla**

Uživaj u životu unatoč atopiji



*Stettler H et al. A new topical panthenol-containing emollient for maintenance treatment of childhood atopic dermatitis: results from a multicentre prospective study. J Dermatolog Treat 2017;28:774-779

Bayer d.o.o., Radnička cesta 80, 10000 Zagreb, Hrvatska, tel. 01/6599 900





Prvi i jedini odobreni lijek za liječenje rana povezanih s buloznom epidermolizom

Terapijska indikacija za primjenu lijeka FILSUEVZ® u Europi liječenje je rana koje ne zahvaćaju punu debljinu kože, a povezane su s distrofičnom i spojnom buloznom epidermolizom (EB) u bolesnika starih šest mjeseci i više.¹

Ubrzano cijeljenje rana

U ispitivanju faze 3 (EASE), FILSUEVZ je povećao vjerojatnost zatvaranja ciljne rane do 45 dana ispitivanja za 44%.^{2*}

Smanjena bol

FILSUEVZ je značajno smanjio proceduralnu bol do 14 dana, uz zadržavanje niže numeričke vrijednosti tijekom 90-dnevne dvostruko slijepe faze ispitivanja EASE.^{3*}

Jednostavnost primjene

FILSUEVZ je sterilni gel u tubi za jednokratno nanošenje¹, čime je olakšana njegova primjena pri svakom previjanju rane.

Dobra podnošljivost

Učestalost nuspojava u ispitivanju EASE usporedbom gela FILSUEVZ i kontrolnog gela, je vrlo blaga do umjerena²



Filsuvez
(birch bark extract) gel

Filsuvez gel. 1 g gela sadrži 100 mg ekstrakta (kao suhi ekstrakt, rafinirani) kore vrste *Betula pendula* Roth, *Betula pubescens* Ehrh. kao i hibrida obje vrste (u količini koja odgovara 0,51,0 g brezove kore), uključujući 8495 mg triterpena, izračunato kao suma betulina, betulinske kiseline, eritrodiole, lupeole i oleanolske kiseline. **Terapijske indikacije:** Liječenje rana koje ne zahvaćaju punu debljinu kože povezanih s distrofičnom i spojnom buloznom epidermolizom (EB) u bolesnika starosti 6 mjeseci i više. **Doziranje i način primjene:** Gel debljine oko 1 mm treba nanijeti na površinu rane i prekriti sterilnom neprianjajućom oblogom za rane ili nanijeti na oblogu tako da gel bude u izravnom doticaju s ranom. Filsuvez treba nanositi na očišćene rane. Ovaj lijek nije za oftalmološku primjenu i ne smije se nanositi na sluznice. Jedna tuba je samo za jednokratno korištenje. Tuba se mora baciti nakon primjene. **Kontraindikacije:** Preosjetljivost na djelatnu tvar ili neku od pomoćnih tvari. **Posebna upozorenja i mjere opreza pri uporabi:** Pojavila se preosjetljivost u bolesnika liječenih Filsuvezom. Ako se pojave znakovi i simptomi lokalne ili sistemske preosjetljivosti, odmah treba prekinuti primjenu Filsuveza i započeti odgovarajuću terapiju. U slučaju infekcije se preporuča prekid liječenja. Liječenje se može nastaviti kad se infekcija povuče. Bolesnici koji imaju distrofičnu buloznu epidermolizu (engl. *dystrophic epidermolysis bullosa*, DEB) i spojnu buloznu epidermolizu (engl. *junctional epidermolysis bullosa*, JEB) mogu imati veći rizik od razvoja karcinoma pločastih stanica. Iako dosad nema povećanog rizika od kožnih zloćudnih bolesti povezanog s primjenom Filsuveza, teoretski povećan rizik od kožnih zloćudnih bolesti povezan s primjenom Filsuveza ne može se isključiti. U slučaju izlaganja očiju, lijek treba ukloniti ispiranjem očiju. **Interakcije s drugim lijekovima i drugi oblici interakcija:** Kako je sistemska izloženost glavnoj komponenti betulinu nakon primjene na koži zanemariva, ne očekuju se interakcije s lijekovima koji djeluju sistemski. Ostali lijekovi za topikalnu primjenu ne smiju se koristiti istovremeno s Filsuvezom, već je poželjno koristiti ih prije ili poslije ili na drugi način ovisno o kliničkoj potrebi. **Plodnost, trudnoća i dojenje:** Filsuvez se može koristiti u trudnoći. Filsuvez se može koristiti tijekom dojenja, osim ako se liječi područje prsa. Ne očekuju se učinci na plodnost ljudi s obzirom da je sistemska izloženost zanemariva. **Utjecaj na sposobnost upravljanja vozilima i rada sa strojevima:** Filsuvez ne utječe ili zanemarivo utječe na sposobnost upravljanja vozilima i rada sa strojevima. Za potpuni popis nuspojava, molimo pogledajte sažetak opisa svojstava lijeka. **Nuspojave:** Najčešće primijećene nuspojave bile su komplikacije rane, reakcija na mjestu primjene, infekcije rane, svrbež, bolna koža i reakcije preosjetljivosti. Nema klinički relevantnih razlika u reakcijama prijavljenim kod bolesnika s EBom u usporedbi s bolesnicima s drugim oblikom PTW-a. Od zdravstvenih radnika se traži da prijave svaku sumnju na nuspojavu lijeka putem nacionalnog sustava prijave nuspojava: Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED), Internetska stranica: www.halmed.hr ili potražite HALMED aplikaciju putem Google Play ili Apple App Store trgovine. **Predoziranje:** Nisu prijavljeni slučajevi predoziranja pri korištenju maksimalne količine od 69 g na dan tijekom više od 90 dana. **Nositelj odobrenja za stavljanje lijeka u promet:** Amryt Pharmaceuticals DAC, 45 Mespil Road, Dublin 4, Irska. **Broj odobrenja za stavljanje lijeka u promet:** EU/1/22/1652/001-005. **Datum prvog odobrenja:** 21. lipnja 2022. Detaljnije informacije o ovom lijeku dostupne su na internetskoj stranici Europske agencije za lijekove <http://www.ema.europa.eu>.

Naša najbolja zaštita za dojenčad rođenu carskim rezom



HiPP BIO COMBIOTIK®
potiče stvaranje uravnotežene
crijevne mikrobiote.



NOVO- meta-analiza dokazuje:

L. fermentum CECT5716 smanjuje učestalost
gastrointestinalnih infekcija za 73%.¹

Važna informacija:

Majčino mlijeko je najbolja hrana za dijete. Mliječni pripravci
za dojenčad trebali bi se davati samo po preporuci
zdravstvenih djelatnika.
¹ Blanco-Rojo R et al. Front. Pediatr. 2022; 10: 906924.
doi: 10.3389/fped.2022.906924



Za više informacija o carskim rezovima
skenirajte QR kod ili posjetite:
hipp.com/hcp/caesarean-section

CURAPROX

CURAPROX DUDA NAJBOLJI POČETAK

Curaprox ortodonske dude su biofunkcionalne i djeluje u skladu s prirodnim razvojem bebe:

- Podržavaju pravilan rast i razvoj nepca, čeljusti i zuba.
- Podržavaju pravilno disanje kroz nos.
- Potiču optimalan obrazac gutanja – bez štetnih nuspojava.
- Tri veličine prilagođene različitim uzrastima i potrebama.
- Proizvedene u Švicarskoj



Curaprox baby i kods linija dostupna je u webshopu curaprox.hr i dm.hr te u bolje opskrbljenim ljekarnama



Curaprox Hrvatska



[curaprox_hrvatska](https://www.instagram.com/curaprox_hrvatska)



[curaproxhrvatska](https://www.tiktok.com/curaproxhrvatska)