

# GENETSKA ANALIZA U PEDIJATRIJSKOM INTENZIVNOM LIJEČENJU U KBC RIJEKA - RETROSPEKTIVNA ANALIZA

---

**Primorac, Dora**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2024**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:126811>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-31**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ

Dora Primorac

GENETSKA ANALIZA U PEDIJATRISKOM INTENZIVNOM LIJEČENJU U  
KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU RIJEKA - RETROSPEKTIVNA ANALIZA

Diplomski rad

Rijeka, 2024

SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ

Dora Primorac

GENETSKA ANALIZA U PEDIJATRISKOM INTENZIVNOM LIJEČENJU U  
KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU RIJEKA - RETROSPEKTIVNA ANALIZA

Diplomski rad

Rijeka, 2024

Mentor rada: doc.dr.sc. Kristina Lah Tomulić, dr.med.

Diplomski rad ocjenjen je dana \_\_\_\_\_ godine u/na Medicinskom fakultetu

Sveučilišta u Rijeci pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof.dr.sc. Nina Pereza, dr.med.

2. doc.dr.sc. Ana Milardović, dr.med.

3. prof.dr.sc. Srđan Banac, dr.med.

Rad sadrži 31 stranicu, 14 slika, 0 tablica i 25 literaturna navoda.

## **ZAHVALA**

*Zahvaljujem se svojoj mentorici, doc.dr.sc. Kristini Lah-Tomulić, na svom izdvojenom vremenu, trudu i ukazanoj pomoći.*

*Zahvaljujem se svojim prijateljima iz osnovnoškolskih, srednjoškolskih i fakultetskih dana, posebno mojoj Mare s kojom je svaki ispit bio mrvicu lakši.*

*Najveće hvala dugujem svojoj mami, ostatku obitelji i dečku na ljubavi, bezuvjetnoj podršci i neizmjernej vjeri u moj uspjeh.*

*Bez vas ove diplome nebi bilo.*

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Genetičko testiranje .....	2
1.1.1. Vrste genetičkog testiranja prema indikacijama .....	2
1.1.2. Metode genetičkog testiranja.....	3
1.1.3. Hodogram procesa sekvenciranja genoma .....	6
1.2. Primjena genetike u pedijatriji .....	7
2. SVRHA RADA .....	8
3. ISPITANICI I METODE .....	8
3.1. Ispitanici.....	8
3.2. Metode .....	8
4. REZULTATI.....	9
5. RASPRAVA .....	19
6. ZAKLJUČAK .....	23
7. SAŽETAK.....	24
8. SUMMARY .....	25
9. LITERATURA .....	26
10. ŽIVOTOPIS .....	30

## POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

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

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

mRNA (*engl.* messenger ribonucleic acid) – glasnička RNA

rRNA (*engl.* ribosomal RNA) – ribosomska RNA

GTG (*engl.* G-bands by trypsin using Giemsa) - kariotipizacija

aCGH (*engl.* microarray-based comparative genomic hybridization) - komparativna  
genomska hibridizacija na mikročipu

PCR (*engl.* polymerase chain reaction)- lančana reakcija polimerazom

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

WGS (*engl.* whole genome sequencing) - sekvenciranje cjelokupnog genoma

WES (*engl.* whole exome sequencing ) - sekvenciranje cjelokupnog egzoma

TAS (*engl.* target amplicon sequencing)- ciljano sekvenciranje

JIL- jedinica intenzivnog liječenja

KBC-Klinički bolnički centar Rijeka

## 1. UVOD

Razvojem medicinske genetike dolazi do njezine integracije u brojne dijelove medicine, uključujući farmakogenomiku, dijagnostiku dismorfnih sindroma, prenatalnu dijagnostiku, te personaliziranu medicinu. Samoj integraciji uveliko je pomoglo uvođenje sekvenciranja sljedeće generacije u kliničku praksu (1). U početku su se testovi bazirali na traženje molekularnog objašnjenja za određen fenotip, te je većina testova tražena od kliničara u svrhu potvrđivanja dijagnoze, te procjene rizika od ponovnog pojavljivanja. Na primjer, liječnik kod bolesnika sa cističnom fibrozom, koja je monogenska bolest, sumnju postavlja preko dobro definiranog fenotipa, a testiranje je usmjereno na CFTR gen, te postoji mogućnost potvrđivanja genetske etiologije. S druge strane, testove za poligenske bolesti, kao što je npr. retinitis pigmentosa, razvijaju se sporije. Kroz dugi niz godina kliničari bi se okrenuli genetskom testiranju tek nakon što razni laboratorijski testovi i slikovne pretrage ne bi dale rezultate. Međutim, napretkom medicinske genetike, kliničari su prepoznali da pozitivan genetski test može smanjiti vrijeme i trošak potrebnih za ostalu dijagnostiku. Na primjer, kod djeteta s oštećenjem sluha, tradicionalni pristup bio je provođenje niza testova kao što su testiranje na zarazne bolesti, radiologija unutarnjeg uha i sl., kako bi se pokušala identificirati etiologija, dok danas kliničari genetsko testiranje koriste kao vrlo ranu dijagnostičku pretragu, s obzirom na to da se na taj način mogu identificirati uzorci u 80 % slučajeva gubitka sluha (2).

Shvaćanjem važnosti medicinske genetike, genetičko je testiranje evoluiralo u sveobuhvatno genomsko testiranje, ne samo u znanstvene svrhe već i u svakodnevnoj kliničkoj praksi (1).



## 1.1. Genetičko testiranje

Genetičko testiranje je laboratorijska metoda kojom se analiziraju DNA, RNA, kromosomi, proteini i određeni metaboliti u stanicama ili tkivu ispitanika, te se potvrđuje ili isključuje određeni genetički poremećaj (3).

### 1.1.1. Vrste genetičkog testiranja prema indikacijama

Genetička testiranja, ovisno o indikaciji, svrstavaju se u različite skupine: dijagnostička, prediktivna, određivanje statusa nositelja, probir u populaciji i farmakogenomsko testiranje.

*Dijagnostičko testiranje* koristi se za dokazivanje određenog genetičkog poremećaja na temelju kliničkih znakova i simptoma, te je cilj potvrditi ili isključiti radnu dijagnozu.

Primjer dijagnostičkog testiranja je testiranje na Fragilni X kod dječaka s intelektualnim zaostajanjem (3).

*Prediktivno testiranje* uključuje testiranje asimptomatske osobe, ali je bolest prisutna u obitelji. Ukoliko je rezultat testiranja pozitivan, ukazuje na to da će ispitanik moguće razviti određenu bolest, ali ne može se odrediti vrijeme početka, težinu kliničke slike niti tijek bolesti (3). Prediktivno testiranje dijeli se u dvije podskupine, presimptomatsko i predispozicijsko prediktivno testiranje. Ukoliko je penetrabilnost potpuna (100%) govorimo o presimptomatskom testiranju, s druge strane ukoliko je penetrabilnost nepotpuna (< 100%) govorimo o predispozicijskom testiranju. Primjer bolesti s potpunom penetrabilnošću je Huntingtonova bolest, a mutacija BRCA1 gena kod žena s pozitivnom obiteljskom anamnezom primjer je nepotpune penetrabilnosti, jer se karcinom može i ne mora razviti (4).

*Određivanje statusa nositelja* provodi se kod asimptomatskih osoba u svrhu pronalaska balansiranih strukturnih kromosomskih aberacija ili koje imaju pozitivnu obiteljsku

anamnezu određenog recesivnog genetskog poremećaja. Značaj se pronalazi u obavještanju ispitanika o mogućim posljedicama na potomstvo (5).

*Testovi probira* imaju važnu ulogu u održavanju zdravlja opće populacije. Probirni test ima za cilj otkrivanje rizika od nastanka određene genetske bolesti te tako pravovremenom reakcijom odgoditi, spriječiti ili liječiti otkrivenu bolest (6). U populaciji se razlikuju dvije vrste probira: nereproduktivni i reproduktivni probir. Nereproduktivni probir je novorođenački probir koji se vrši u sve novorođenčadi odmah nakon rođenja, te za cilj ima traganja za nekim prirodnim bolestima. U program novorođenačkog probira u Republici Hrvatskoj do 2017. godine bile su uključene fenilketanurija i prirođena hipotireoza. Naknadno se popis proširio na još šest bolesti: nedostatak acil-CoA-dehidrogenaze srednjih lanaca, nedostatak 3-OH-acil-CoA-dehidrogenaze vrlo dugih lanaca, nedostatak karnitinskog nosača, izovalerička acidurija, glutarna acidurija tip I i spinalna mišićna atrofija (7). Reproduktivan probir se sastoji od prenatalnog probira i biokemijskog/genomskog probira nositelja u rizičnim populacijama (6).

Cilj *farmakogenomike* je razumjeti kako genom pojedinca djeluje na određen lijek, te podložnost razvoja nuspojava i učinkovitosti pri primjeni istog. Farmakogenomsko testiranje koristi se u svrhu razvitka personalizirane medicine kako bi se osigurala maksimalna efikasnost s minimalnim nepoželjnim efektima (8).

### **1.1.2. Metode genetičkog testiranja**

Postoje različite vrste genetskog testiranja ovisno je li abnormalnost u strukturi kromosoma, funkciji proteina i sekvenci DNA. Time su dostupne tri kategorije: citogenetičko, biokemijsko i molekularno testiranje.

*Klinička citogenetika* nezaobilazan je dio dijagnostike raznih genetskih poremećaja uzrokovanih strukturnim i numeričkim promjena na kromosomima (9).

*Biokemijsko genetičko testiranje* koristi se za dijagnosticiranje prirođenih metaboličkih bolesti kod kojih postoji određena promjena u proteinu, te ona ometa funkcioniranje pravilnog metaboličkog puta. Uzima se uzorak tkiva, najčešće krvi, te se izravno mjeri aktivnost proteina, razine metabolita te veličine ili količine proteina (10).

*Molekularno testiranje* bazira se na analizi sekvenci DNA, te se time otkrivaju određene promjene u genima ili dijelovima gena. Na taj način dobivamo informacije o dijagnostici ili riziku razvitka određene bolesti (11).

Najčešće korištene metode za dokazivanje genetskih bolesti u svakodnevnoj kliničkoj praksi su:

*GTG metoda (kariotipizacija)* standardna je metoda citogenetike već desetljećima, no zbog male rezolucije, od 5-10 Mb, postepeno se zamjenjuje naprednijim tehnološkim metodama. Temeljni se na citogenetskoj analizi stanica periferne krvi, plodove vode (ili korionskih resica) koja se izvodi na metafaznim kromosomima, te omogućuje prepoznavanje pravilne strukture raspodjelom svijetlih i tamnih pruga (12).

*Komparativna genomska hibridizacija na mikročipu (aCGH)* je metoda koja omogućava visoku razlučivost varijacije broja kopija (delecije i duplikacije) u genomu. U usporedbi sa standardnim testovima analize kromosoma gdje je granica detekcija 5-10 Mb, njegova analiza seže i do 50-100 kb čime se mogu detektirati suptilne patološke promjene broja kromosoma i kada klasična citogenetska analiza daje normalan nalaz. Ova metoda temelji se na usporedbi referentne DNA i DNA uzorka obilježene fluorescentnom bojom, a zatim se istodobno cijepaju endonukleazom i hibridiziraju na mikročipove s probama, te se onda uspoređuje intenzitet fluorescencije pomoću bioinformatičkih alata (13).

*Sekvenciranje sljedeće generacije* (NGS) pripada novijoj tehnologiji koja se koristi za sekvenciranje DNA i RNA te otkrivanje mutacija. Prednosti NGS temelje se na:

- brzini (ima mogućnost paralelnog sekvenciranja golemog broja ciljanih regija gena, te na taj način mogućnost otkrivanja višestrukih mutacija u istoj analizi)
- cijena (jeftinije u odnosu na klasične metode)
- smanjenje potrebne količine DNA/RNA potrebnih za sekvenciranje

Trenutačno dostupne tehnologije omogućuju provedbu sekvenciranja kroz različite pristupe (14):

- a) *Cjelogenomsko sekvenciranje* vrsta je NGS-a koja obuhvaća sve egzone i nekodirajuće regije (15).
- b) *Sekvenciranje cjelokupnog egzoma* omogućava uvid u 1-2% ljudskog genoma sekvencioniranjem kodirajućih regija. Fokusom na egzom značajno je olakšan pristup dijagnostici zbog smanjenja broja mogućih varijanti od 3-4 milijuna na oko 25000, a time dolazi do porasta vjerojatnosti pronalaska patogene varijante koja je uzrokovala bolest. Međutim, postoje i bolesti kojima se uzrok ne nalazi na egzomu te one neće moći biti dijagnosticirane WES-om (14,16).
- c) *Sekvencioniranje molekula RNA* omogućuje istraživanje i otkrivanje transkriptoma. Tipična analiza transkriptoma počinje pretvorbom RNA, bilo ukupne, obogaćene mRNA ili osiromašene rRNA, te njezino prevođenje u komplementarnu DNA (cDNA). Svaki se segment zatim sekvencira ili „čita“ pomoću platforme visoke propusnosti (14).
- d) *Ciljano sekvenciranje* metoda je kojom se precizno identificiraju pojedinačne promjene sekvencije u određenom genu, te ima veliko značenje u izboru odgovarajuće terapije za liječenje tumora. Na taj način se poboljšavaju rezultati liječenja uporabom

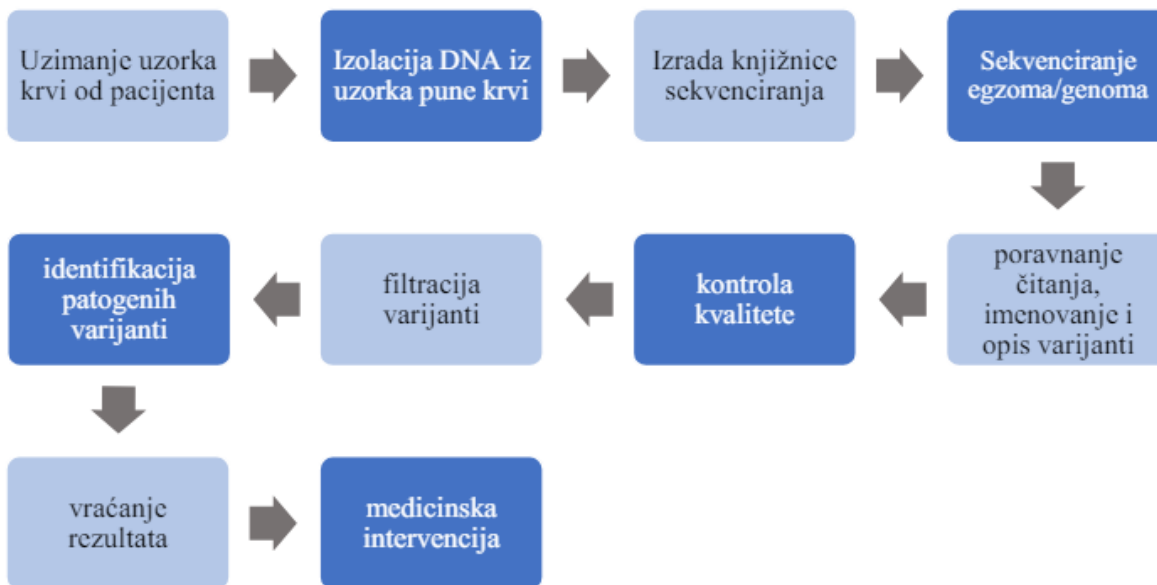
lijekova koji djeluju na ciljni molekularni defekt, poput onih koji se koriste u svrhu dijagnostike i liječenja karcinoma pluća.

- e) *Detekcija epigenetičkih promjena* na molekuli DNA zaslužne su za postojanje različitih fenotipa. One određuju kako se informacije kodirane u sekvencama DNA prevode u specifičan fenotip (14).

Sekvenciranje sljedeće generacije uvedeno je na Zavod za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci 2017. godine i provodi se u suradnji s Kliničkim institutom za genomsku medicinu u Ljubljani (17).

### **1.1.3. Hodogram procesa sekvenciranja genoma**

Proces izolacije DNA započinje uzimanjem uzorka, većinom je to uzorak pune krvi, koja potom prolazi kroz procese umnažanja i sekvenciranja, te posljedično nastaju velike količine sekvenci koje se onda uspoređuju s referentnim genomom. Nadalje, koriste se bioinformatička pomagala koja potom traže mjesto ne podudaranja uzorka s referentnim genomom, te se potom opisuje moguća patologija i njezin medicinski značaj. Slijedno tome, dolazi do reduciranja varijanti prema prioritetu do konačnog broja potrebnog za rukovanje. Na kraju dolazi do manualne organizacije kojom se utvrđuje ukoliko nađena patologija korelira s fenotipom te koje varijante treba vratiti kliničkom timu i bolesniku (18) (Slika 1).



Slika 1 Tijek sekvenciranja genoma od uzimanja uzorka krvi do medicinske intervencije (18).

## 1.2. Primjena genetike u pedijatriji

Pedijatrija je grana medicine koja se bavi djetetom od njegova rođenja do njegove 18-te godine života. Genetičke bolesti mogu se manifestirati u bilo kojem razdoblju života djeteta. Sama dijagnoza može biti izazovna pogotovo u slučajevima kada bolest nastaje *de novo*. Od izuzetne je važnosti u svim slučajevima detaljna obiteljska anamneza i klinički pregled koji mogu u brojnim slučajevima pomoći u daljnjoj dijagnostici.

Najčešće genetičke bolesti koje se javljaju u pedijatrijskoj populaciji su cistična fibroza, fenilketonurija, spinalne mišićne atrofije i hemofilije. Nadalje najčešći primjeri strukturnih aberacija kromosoma i sindromi uzrokovani numeričkim aberacijama kromosoma su Down, Edwards i Patau sindrom (19).

## **2. SVRHA RADA**

Cilj ovog retrospektivnog istraživanja je analizirati bolesnike koji su zaprimljeni na Odjel intenzivnog liječenja djece Klinike za pedijatriju, KBC Rijeka, u vremenskom periodu 01.01.2018. do 31.12.2023. godine i kod kojih je učinjeno genetičko testiranje. Svrha je bila utvrditi razloge upućivanja na genetsku analizu i utvrditi broj pozitivno dobivenih nalaza.

## **3. ISPITANICI I METODE**

### **3.1. Ispitanici**

U ovo retrospektivno istraživanje uključeni su svi bolesnici u dobi od 0 do 18 godina života, kod kojih je zbog bilo kojeg razloga bila učinjena genetska analiza u razdoblju od 01. siječnja 2018. do 31. prosinca 2023. godine, a bili su liječeni na Odjelu intenzivnog liječenja djece, Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Rijeka.

### **3.2. Metode**

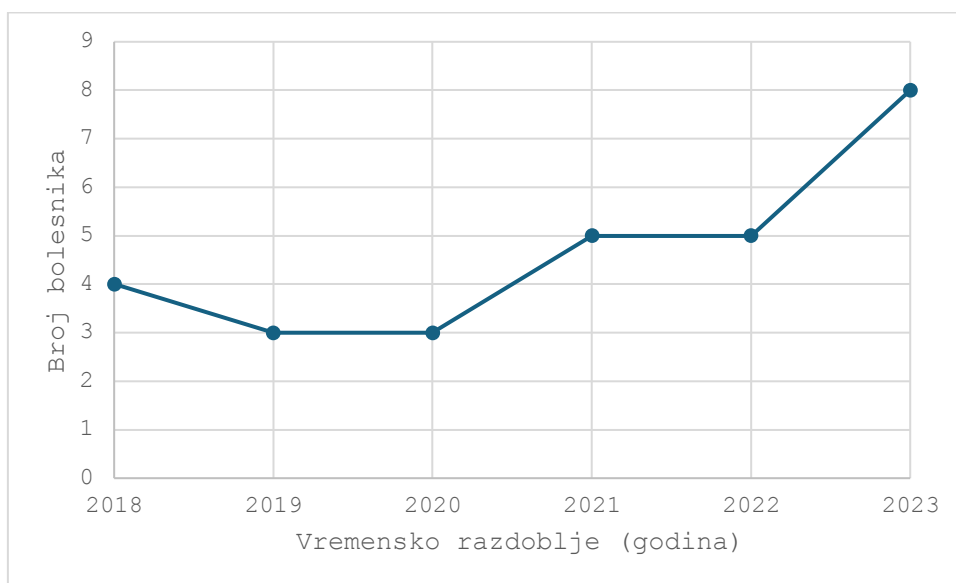
Podatci za retrospektivno istraživanje prikupljeni su pod nadzorom mentora iz arhivirane medicinske dokumentacije i integriranog bolničkog informacijskog sustava (IBIS). Uvidom u povijest bolesti ispitanika prikupljeni su sljedeći podaci: dob, spol, razlog prijema u JIL, metode i rezultati genetičkog testiranja. Podatci prikupljeni tijekom navedenih šest godina uneseni su u proračunske tablice računalnog programa Microsoft Office Excel.

Navedeno istraživanje odobreno je od Etičkog povjerenstva KBC-a Rijeka (Klasa: 003-05/24-01/75, Urudžbeni broj: 2170-29-02/1-24-2).

#### 4. REZULTATI

U istraživanju je u ispitivanom vremenskom razdoblju (01.01.2018.- 31.12.2023.) uključeno 28 bolesnika koji su upućeni na genetsko testiranje.

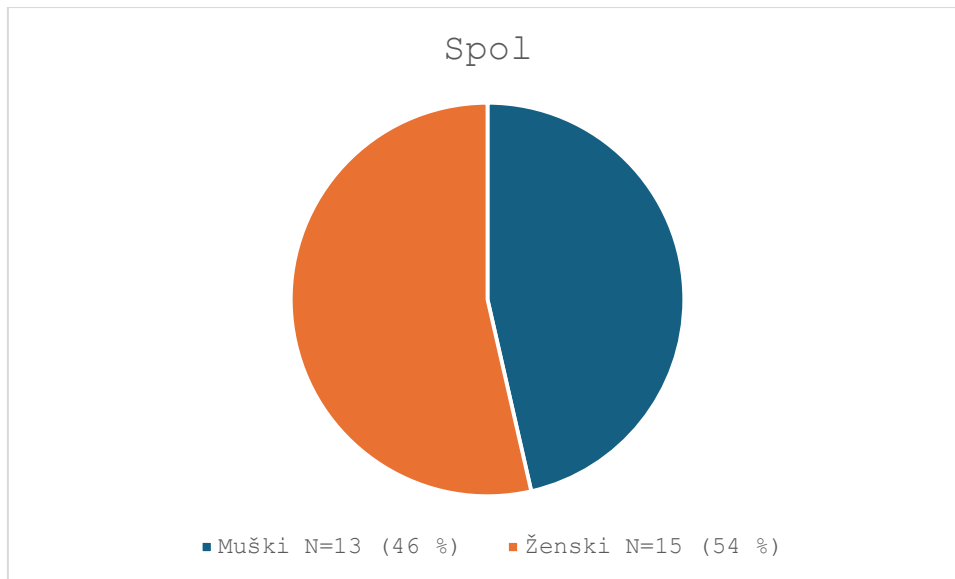
Najveći broj upućenih bolesnika bio je 2023. godine, dok je najmanji broj upućenih 2019. i 2020. godine. Rezultati su prikazani na slici 2.



*Slika 2 Prikaz broja bolesnika po godinama upućenih na genetsku analizu od siječnja 2018. do prosinca 2023. koji su liječeni u JIL-u Klinike za pedijatriju, KBC Rijeka.*

Od ukupnog broja ispitanika, 46 % (N =13) je muškog, a 54 % (N=15) ženskog spola pri čemu dobijemo omjer muškog i ženskog spola 1,2:1. (Slika 3)

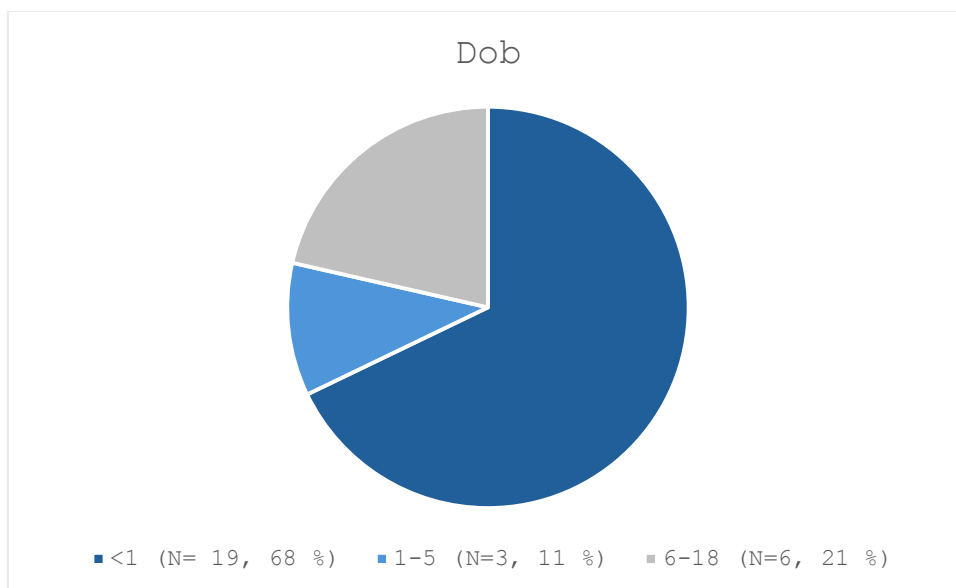




*Slika 3 Raspodjela ispitanika po spolu, kod kojih je učinjena genetska analiza u JIL-u, Klinike za pedijatriju, KBC Rijeka u razdoblju od 2018.-2023.*

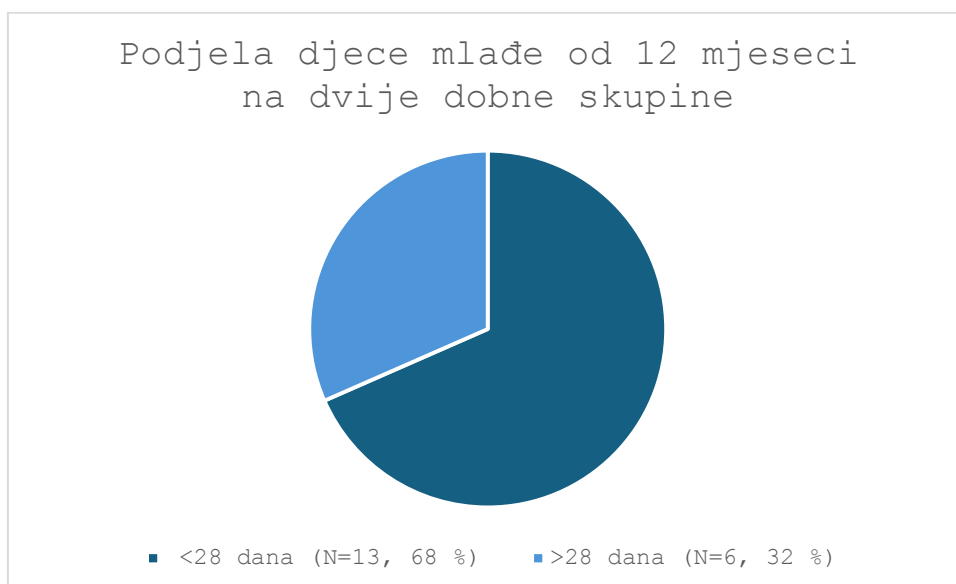
Ispitanici su, za potrebu prikaza rezultata podijeljeni u tri dobne skupine. Prvu dobnu skupinu čine djeca do navršene prve godine života, drugu skupinu čine djeca od prve do navršenih pet godina života i treću skupinu čine djeca od šeste do navršene 18 godine života. Najveći broj bolesnika pripada prvoj dobnoj skupini (<1g) (N=19, 68%), drugu skupinu (1-5 godine) čine tri ispitanika (11%) te treću skupinu (6-18 godine) čini ukupno šest ispitanika (21%) .

Prosječna dob ispitanika iznosi 2,8 godina. Rezultati su prikazani na slici 4.



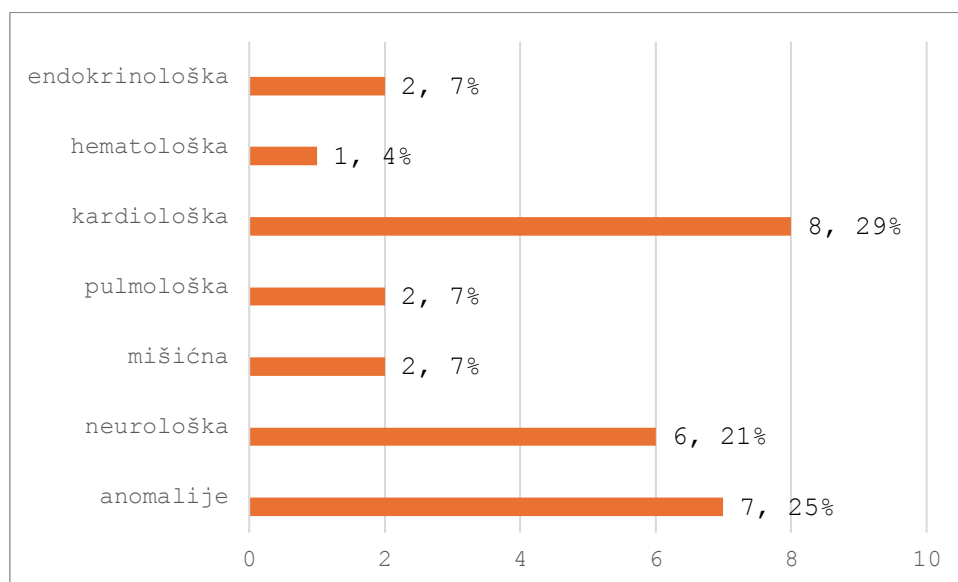
*Slika 4 Prikaz bolesnika po dobnim skupinama kod kojih je učinjena genetska analiza u JILu, Klinike za pedijatriju KBC Rijeka u razdoblju 2018.-2023.*

Prva dobna skupina koju čini 19 bolesnika (68 %) odnosi se na ispitanike ispod 12 mjeseci života. Ovu skupinu većinu djece čini novorođenčad (N=13,68 %); djece starije od 28 dana u ovoj skupini bilo je šest (32 %). Rezultati su prikazani na slici 5.



*Slika 5 Podjela bolesnika mlađih od 12 mjeseci u dvije dobne skupine, kod kojih je učinjena genetska analiza tijekom boravka u JILu, Klinike za pedijatriju, KBC Rijeka u ispitivanom razdoblju (2018.-2023.)*

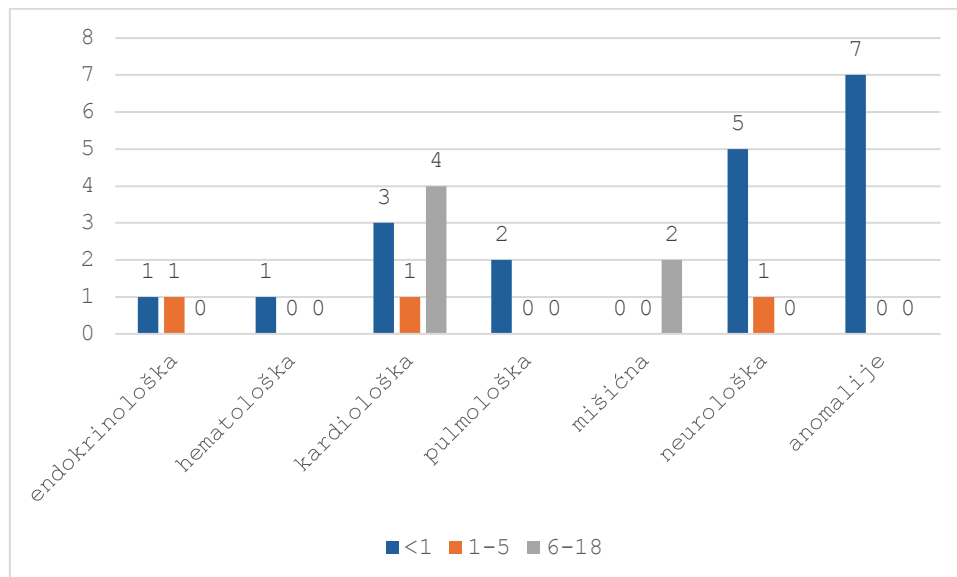
Ispitanici su podijeljeni u skupine ovisno o primarnom razlogu upućivanja na genetsku analizu (npr. ukoliko je razlog upućivanja bila hipertrofična kardiomiopatija uvršten je u kardiološku skupinu, ukoliko je uzrok bila epilepsija uvršten je u neurološku skupinu). Najzastupljenija bila je kardiološka skupina s ukupno osam bolesnika (29%), slijede multiple prirođene anomalije gdje je ukupno bilo sedam bolesnika (25%), šest bolesnika pripada neurološkoj skupini (21%), a po dva bolesnika pripadaju pulmološkoj, endokrinološkoj i mišićnoj skupini bolesti (7%). Najmalobrojnija skupina bila je hematološka s jednim bolesnikom (4%). Rezultati su prikazani na slici 6.



*Slika 6 Prikaz ispitanika grupiranih prema primarnim indikacijama upućivanja na genetsko testiranje u JIL-u Klinike za pedijatriju, u ispitivanom razdoblju (2018.-2023.) (N=28)*

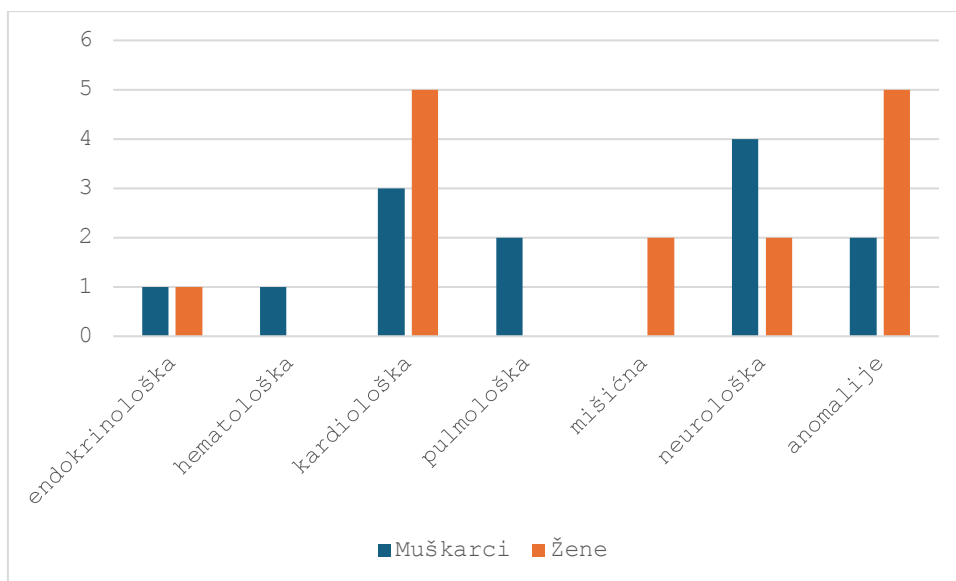
Analizirana je dob ispitanika i uzrok upućivanja na genetsku analizu. U prvoj dobnoj skupini (<1 godine), sedam od ukupno 19 ispitanika imalo je multiple prirođene anomalije, pet bolesnika neurološku indikaciju, tri kardiološku, dvoje pulmološku, te po jedan ispitanika endokrinološku i hematološku indikaciju za genetsko testiranje. U drugoj dobnoj skupini (1-5 godine), po jedno dijete je imalo endokrinološku, kardiološku i neurološku indikaciju. U trećoj dobnoj skupini (6-18 godine), četvero od ukupno šest ispitanika imalo je kardiološku

indikaciju za genetsko testiranje; dvoje je testirano zbog neuromišićnih bolesti. Rezultati su prikazani na slici 7.



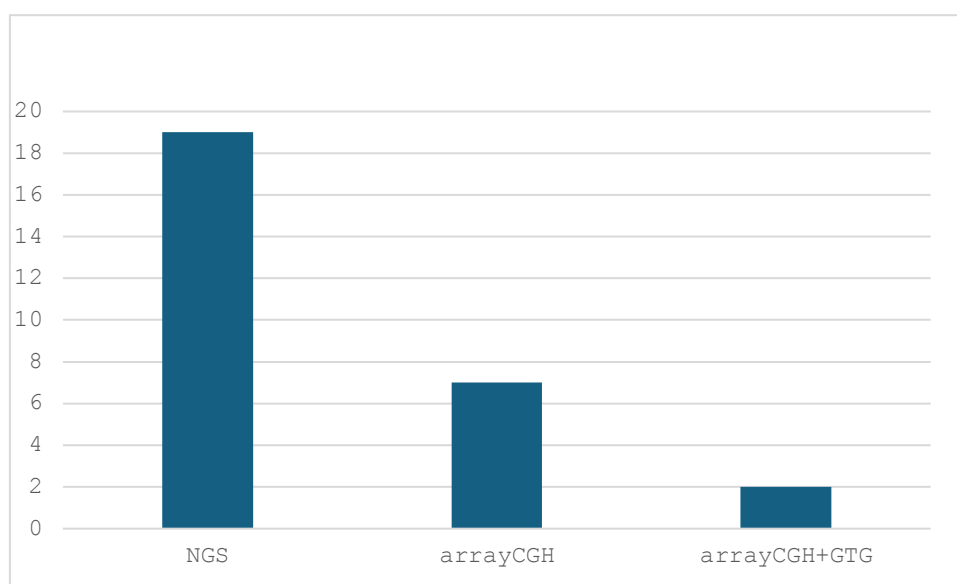
*Slika 7 Zastupljenost pojedine primarne indikacija za genetsko testiranje po određenim dobnim skupinama djece u JIL-u Klinike za pedijatriju, KBC Rijeka u ispitivanom razdoblju (2018.-2023.)*

Analiziran je odnos određenih skupina bolesti prema zastupljenosti spola. Endokrinološka skupina jednako je zastupljena kod muške i ženske djece. Hematološka i pulmološka skupine zastupljene su samo kod muške djece, dok je neuromišićna bolest zastupljena samo u ženskom spolu. Kardiološka skupina bolesti i skupina multiplih prirođenih anomalija češća je kod ženskog spola, dok je neurološka skupina zastupljenija kod muškog spola. Rezultati su prikazani na slici 8.



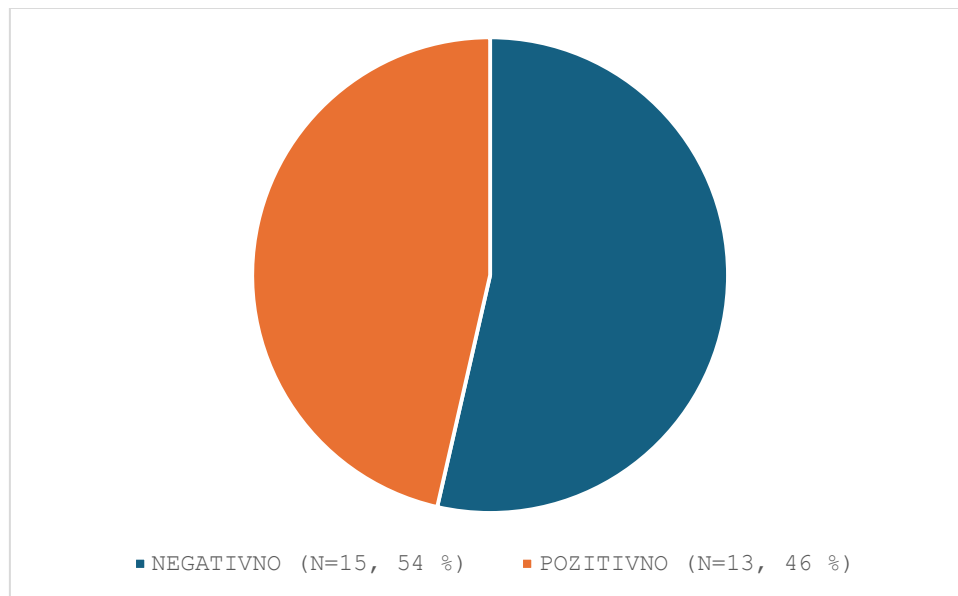
*Slika 8 Prikaz zastupljenosti primarnih indikacija prema spolu u djece kod kojih je učinjena genetska analiza u JIL-u u ispitivanom razdoblju (2018.-2023.)*

Najčešće korištena metoda za genetsko testiranje bila je NGS (N=19, 68 %). Slijedeća po korištenju bila je arrayCGH (N=7, 25 %). U dva slučaja su u iste djece korištene dvije metode (arrayCGH i GTG kariotipizacija )(N= 2, 7 %).



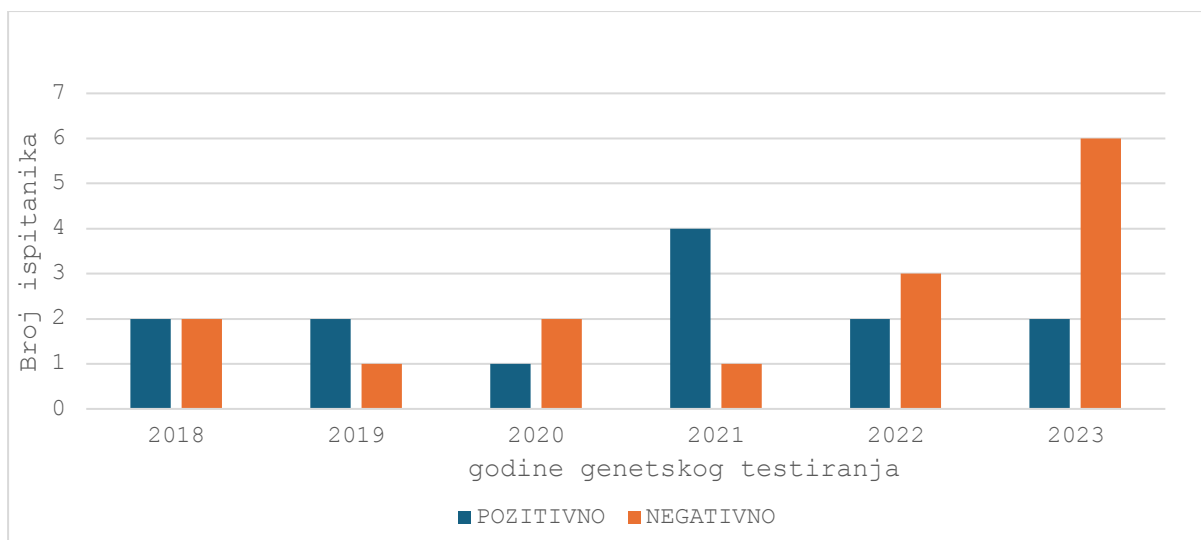
*Slika 9 Prikaz korištenih metoda za genetsku analizu u periodu između 2018. i 2023. godine*

Od ukupnog broja provedenih testiranja pozitivni rezultati (u kojima je pronađena određena varijanta nejasnog značaja, patogena ili vjerojatno patogena varijanta sekvence) dobiveni su kod 13 bolesnika (46 %), dok kod 19 bolesnika (54 %) genetička aberacija nije pronađena (slika 10).



*Slika 10 Raspodjela pozitivnih i negativnih nalaza genetskog testiranja djece u periodu između 2018. i 2023. godine*

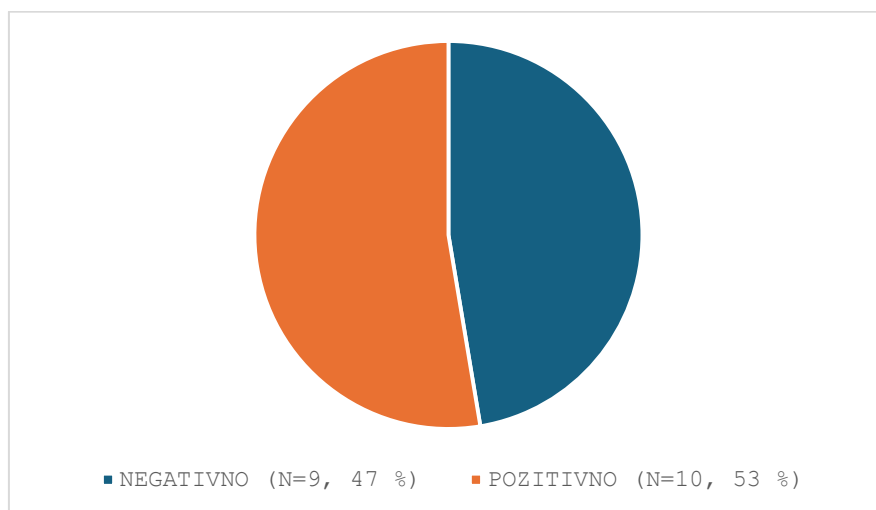
Broj pozitivnih i negativnih nalaza u odnosu na godine prikazan je na slici 11. Između 2018. i 2020. godine omjer pozitivnih i negativnih nalaza je gotovo isti; 2021.godine vidi se veći broj pozitivnih testova, dok 2022. i 2023. godine dolazi do porasta negativnih rezultata.



*Slika 11 Broj pozitivnih i negativnih rezultata nalaza u usporedbi s ukupnim brojem ispitanika između 2018. i 2023. godine.*

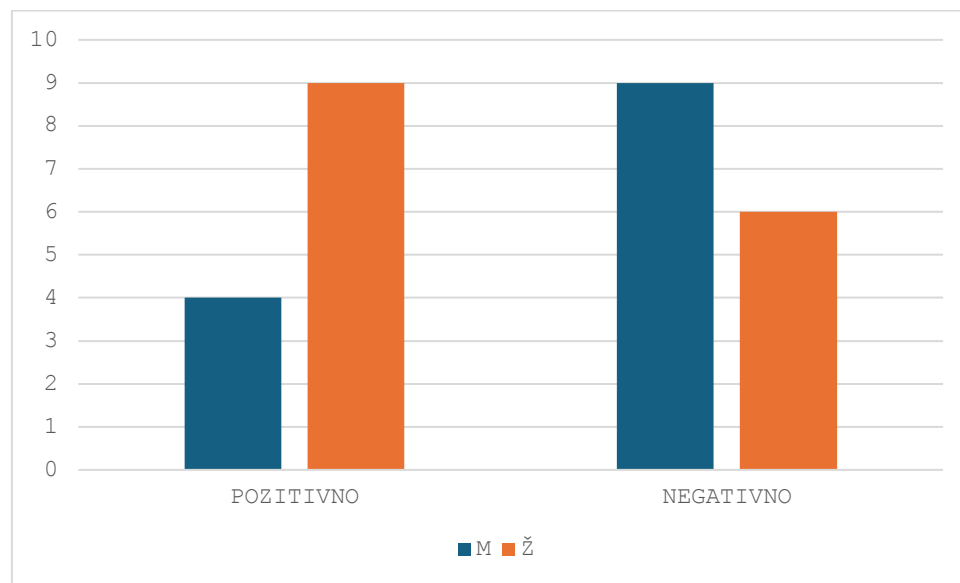
Od ukupnog broja odrađenih testova NGS metodom (N=19), pozitivan NGS nađen je u 10 bolesnika (N=10, 53 %) dok je test bio negativan kod devetero bolesnika (N=9, 47 %).

Rezultati su prikazani na slici 12.



*Slika 12 Raspodjela rezultata genetske analize u djece NGS testiranja u ispitivanom razdoblju (2018.-2023.)*

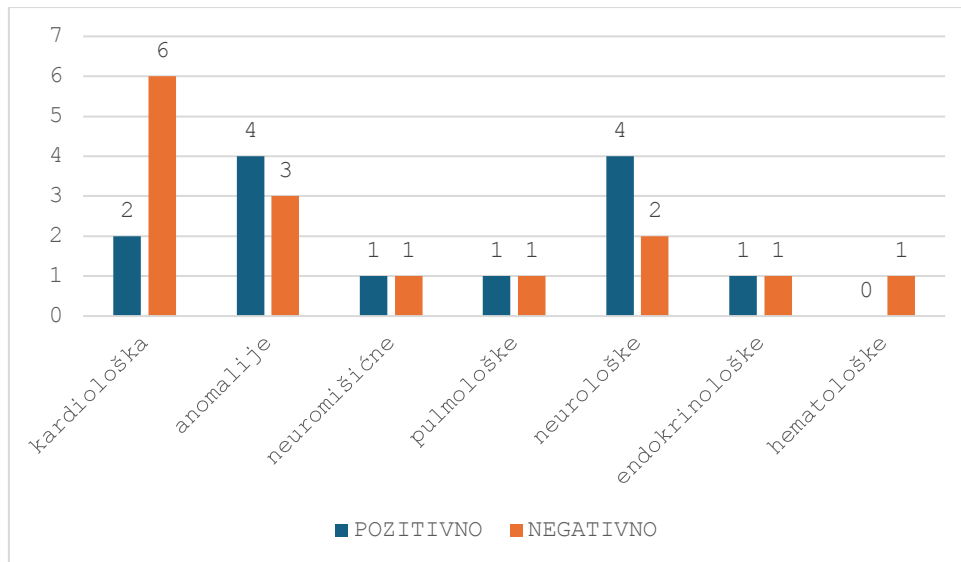
Uspoređen je odnos spola s dobivenim rezultatom genetskog testa. Od ukupnog broja pozitivnih testova genetskog testiranja (N=13), češći je ženski spol (N=9, 69%) od muškog (N=4, 31%). S druge strane, od ukupnog broja negativnih testova (N=15) češći je bio kod pripadnika muškog spola (dječaci: N=9, 60%, djevojčice N=6, 40%). Rezultati su prikazani na slici 13.



*Slika 13 Rezultati genetskog testiranja u odnosu na spol djece u JILu, Klinike za pedijatriju, KBC Rijeka u ispitivanom razdoblju (2018.-2023.)*

Od ukupnog broja dobivenih negativnih rezultata genetskog testiranja (N=15) najčešće negativan nalaz pripada kardiološkoj skupini bolesti (N=6, 40 %). S druge strane, od ukupnog broja pozitivnih testova (N=13) genetskog testiranja najčešći pozitivan rezultat bio je u skupini multiplih prirođenih anomalija (N=4, 31%) i neurološke skupine bolesti (N=4, 31%). Rezultati su prikazani na slici 14.





*Slika 14 Rezultati testiranja u odnosu na skupine bolesti djece u JILu, Klinike za pedijatriju, KBC Rijeka u ispitivanom razdoblju (2018.-2023.)*

## 5. RASPRAVA

Brz razvoj medicinske genetike rezultirao je boljem razumijevanju molekularnih osnova bolesti zahvaljujući pouzdanim dijagnostičkim metodama. Proširenjem dostupnosti genetičkih testova i širenjem znanja o ulozi gena, genetika postaje integralni dio medicinske prakse. Iako je genetički test dio laboratorijskih testova, njegova posebnost leži u tome što je nalaz, u najvećem broju slučajeva, definitivan; utvrđena promjena ostaje u nasljednom zapisu cijeli život. Za pravilnu interpretaciju testa potrebno je poznavati ograničenja i specifičnosti određenog testa, te pravilnu indikaciju kako bi se optimalno iskoristile mogućnosti medicinske genetike (20).

Ovim istraživanjem željele su se prikazati metode genetskog testiranja koje su korištene u kritično bolesnih pedijatrijskih bolesnika tijekom boravka u odjelu intenzivnog liječenja i njihovi rezultati, te odnos istih s dobi, spolom i primarnom skupinom bolesti koja je bila razlog testiranja u periodu između 2018. i 2023. godine na Klinici za pedijatriju u Rijeci. U tom razdoblju ukupno je testirano 28 bolesnika u dobi od 0 do 18 godine života.

Tijekom 2018. godine na genetsko testiranje upućena su četiri bolesnika, dok je 2023. testirano ukupno osmero bolesnika te to čini porast od 100 %. Porast se može objasniti boljom educiranošću zdravstvenih djelatnika o korištenju moderne genetičke tehnologije i lakše dostupnosti navedenih pretraga u svakodnevnoj praksi. U istraživanju Poslona i sur. dolazi do porasta broja dijagnostičkih NGS testiranja u razdoblju od 2018. do 2021. godine. Porast između 2018. do 2019. godine iznosi 425%, od 2019 do 2020. 141%, te od 2020. do 2021. pada za 8% , što korelira s našim istraživanjem (17).

Analizom ispitanika prema spolu rezultati istraživanja pokazuju da je veći postotak ženskog spola upućen na genetsko testiranje (54%) u odnosu na muški spol (46%). Češće je nađen pozitivan rezultat kod pripadnica ženskog spola (69%) u odnosu na one muškog spola (31%).

U radu Bowlinga i sur. na genetsko testiranje češće su upućivani dječaci, što se razlikuje od našeg istraživanja. S druge strane, u istom radu pozitivan rezultat je bio nešto češći kod djevojčica, a taj rezultat korelira s ovim istraživanjem (21). U radu Lichstein i sur, također su češće na genetsko testiranje upućivani dječaci (22).

Najveći broj ispitanika, ukupno 19 djece (68%) nalazi se u dobnoj skupini do prve godine života. Od toga novorođenčad čine 13 bolesnika (68%), a ostalo su djeca dojenačke dobi. Drugu dobnu skupinu od tri (11%) bolesnika čine bolesnici od prve do pete godine života, te zadnju čini šest bolesnika (21%) od šeste do navršenih 18 godina života. U radu Quiata i sur. češće su na genetska testiranja upućivana djeca mlađa od godine dana što korelira s ovim istraživačkim radom (23). U radu Yuan i sur. najčešći su ispitanici bili mlađi od godine dana, potom od prve do šeste godine, te najrjeđi su bili oni od šeste do 18-te godine života što relativno korelira s našim istraživanjem (24). Prosječna dob naših ispitanika iznosi 2,8 godine, u usporedbi s istraživanjem Lee i sur prosječna dob istraživanja iznosi 5,77 godina (25).

Neke skupine bolesti kao što su npr. srčane hipertrofije ili prirodene hipotonije, češće se upućuju na genetsko testiranje od drugih bolesti. Najčešće indikacije u našem istraživanju dolazi iz kardiološke skupine bolesti (29%), multiplih prirodnih anomalija (25%) te neuroloških skupina bolesti (21%). Od ostalih indikacija relativno je jednak broj pulmoloških, endokrinoloških i mišićnih skupina bolesti (svaka po 7%). Najrjeđe zastupljena indikacija dolazi iz hematološke skupine bolesti (4%). U radu Yuan i sur najčešće indikacije također dolaze iz kardiološke skupine, multiplih prirodnih anomalija i neurološke skupine bolesti, dok su najrjeđe zastupljene indikacije mišićne i hematološke što korelira s ovim istraživanjem (24).

Iako je najčešći razlog upućivanja na genetsko testiranje kardiološka bolest, kod njih je češće dobiven negativan rezultat. Slijedeće po učestalosti su multiple prirođene anomalije u djece; u toj skupini su rezultati češće bili pozitivni. Sličan rezultat dobiven je kod neurološke skupine bolesti. Ove tri skupine čine 75% svih obavljenih testova, te to upućuje na povećanu svijest pedijataru u korištenju genetskih testova za postavljanje točnih dijagnoza bolesti. Kod pulmoloških, endokrinoloških i mišićnih skupina bolesti su rezultati ravnomjerno raspoređeni između pozitivnih i negativnih rezultata. Najrjeđa indikacija dolazi iz hematološke skupine, te je dobiven rezultat negativan (17). U radu Bowling i sur, najčešće indikacije su iz kardiološke skupine i multiplih prirođenih anomalija u kojima je češće dobiven negativan rezultat. Najrjeđe indikacije su iz hematološke i endokrinološke skupine; dobiveni rezultat je češće negativan. Dobiveni rezultati relativno koreliraju s našim istraživanjem (21).

Najčešće korištena metoda genetskog testiranja bila je NGS. Od ukupnog broja bolesnika (N=28), NGS korišten je u 19 slučajeva (N=19, 68%). Rezultati NGS bili su pozitivni u 10 bolesnika (53%), a negativni u devet (47%). Istraživanja provedena od strane Poslona Ž. pokazuje da je češći postotak negativnih nalaza NGS metodom (17). Ovaj rezultat pokazuje da se u našoj ustanovi liječnici još uvijek rjeđe odlučuju za genetsku analizu od drugih europskih i svjetskih zdravstvenih ustanova. Od ukupno 28 provedenih genetskih testova omjer pozitivnih i negativnih nalaza bio je promjenjiv tijekom godina. Usporedbom omjera 2018., 2019. i 2020. godine rezultati genetske analize su relativno sličnih omjera između pozitivnog i negativnog rezultata testiranja. S druge strane 2023. godine dolazi do porasta negativnih rezultata testiranja.

Sve je veća dostupnost genetičkog testiranja u svakodnevnoj liječničkoj praksi. Prilikom upućivanja na genetsko testiranje liječnik treba poznavati kompleksnosti upotrebe genetičkog testiranja, odnosno osim prepoznavanja racionalne indikacije, važan je i izbor prikladnog testa, te točna interpretacija nalaza. Upravo zbog toga sve veća zastupljenost genetičkog

testiranja zahtjeva edukaciju iz medicinske genetike u gotovo svim područjima medicine, naročito u pedijatriji, u svrhu što ranijeg i točnijeg postavljanja dijagnoze, dati podatke obitelji o prognozi i ukoliko je moguće započeti adekvatno liječenje genetski uzrokovanih bolesti.

## 6. ZAKLJUČAK

Medicinska genetika pronalazi sve veću integriranost u svakom djelu pedijatrije. Ovo retrospektivno istraživanje, provedeno na uzorku od 28 ispitanika, pruža vrijedne demografske i kliničke podatke, kao i korištene metode, te rezultate genetskih testiranja u našoj ustanovi.

Analizom podataka prikupljenih kroz šestogodišnje razdoblje (2018.-2023. godine) dokazali smo da se na genetsko testiranje češće upućuju djeca ispod 12 mjeseci starosti (68%), što je od izuzetne važnosti za pravovremeno dijagnosticiranje bolesti. Porast broja obavljenih genetskih testova u periodu promatranih rezultata ukazuje na povećanje dostupnosti genetičkog testiranja kao i povećanje njegove primjene u kliničkoj praksi.

Rezultati potvrđuju kako najčešće indikacije dolaze iz kardiološke i neurološke skupine bolesti te multiplih prirođenih anomalija.

U budućnosti se očekuje daljnji porast broja upućivanja na genetsku analizu, ne samo djece na odjelu intenzivnog liječenja, nego i drugim područjima pedijatrije, naročito neuropedijatrije i pedijatrijske kardiologije.

## 7. SAŽETAK

**Uvod.** Razvojem medicinske genetike i sve većom implementacijom genetskog testiranja došlo je do njezine integracije u gotovo sve dijelove medicine. Cilj ovog retrospektivnog istraživanja bio je prikaz otkrivenih genetskih poremećaja, te koje su se metode koristile za otkrivanje istih.

**Materijali i metode.** Ovim istraživanjem obuhvaćena su sva djeca koja su liječena u JILu Klinike za pedijatriju, KBC-a Rijeka u je vremenskom razdoblju od 01. siječnja 2018. godine do 31. prosinca 2023. godine. Analizirani su slijedeći podatci: dob, spol, razlog upućivanja na genetsku analizu, rezultate genetske analize te korištene metode

**Rezultati.** Od 2018. do 2023. godine u istraživanju je sudjelovalo ukupno 28 ispitanika. Od ukupnog broja ispitanika 13 je muškog (46%), a 15 ženskog spola (54%). Najzastupljeniju dobnu skupinu čine djeca mlađa od godine dana života (68%). Najčešća indikacija za testiranje je kardiološka bolesti (29%). Kod najvećeg broja ispitanika (68%) korištena je NGS metoda. Pozitivni rezultati testiranja dobiveni su u 46% slučajeva.

**Zaključak.** Dobiveni rezultati ukazuju na porast broja provedenih genetskih testiranja u razdoblju od 2018. do 2023. za 100% što ukazuje na povećanje dostupnosti genetičkog testiranja kao i povećanje njegove primjene u kliničkoj praksi.

**Ključne riječi:** genetsko testiranje; pedijatrija; DNA

## 8. SUMMARY

**Objective:** The development of medical genetics and its increasing implementation of genetic testing led to its integration into almost all areas of medicine. The aim of this retrospective study was to present the detected genetic disorders and which methods were used to detect them.

**Materials and methods:** This research covers the period from January 1, 2018 to December 31, 2023 and includes the following data: age, gender, primary group of diseases, results and methods used for genetic analysis.

**Results:** From 2018. to 2023. a total of 28 patients participated in the study, 13 were male (46%) and 15 were female (54%). The most common age group was patients under the age of one (68%). The most common indications for genetic testing were cardiac diseases (29%). The most commonly used genetic method was NGS (68%). Positive results were obtained in 46% of cases.

**Conclusion:** Given results indicate a 100% increase in the number of genetics test performed in the period from 2018 to 2023, which shows an increase in the availability of genetic testing as well as an increase in its application in clinical practice.

**Key words:** genetic testing; pediatrics; DNA



## 9. LITERATURA

1. Čargonja P. Usporedba znanja i stavova o medicinskoj genetici u studenata Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci prije i nakon edukacije iz istoimenog obaveznog kolegija. [Internet] Rijeka: Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci; 2020. [citirano 20.05.2024.] Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:013936>
2. Rehm, Heidi L. “Disease-Targeted Sequencing: A Cornerstone in the Clinic.” *Nature Reviews Genetics*, vol. 14, no. 4, 12 Mar. 2013, pp. 295–300, [citirano 20.05.2024.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/nrg3463>.
3. McPherson, Elizabeth. “Genetic Diagnosis and Testing in Clinical Practice.” *Clinical Medicine & Research*, vol. 4, no. 2, 2006, pp. 123–9, [citirano 25.05.2024.] Dostupno na: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1483893/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1483893/)
4. Bove, Catherine M., et al. “Presymptomatic and Predisposition Genetic Testing: Ethical and Social Considerations.” *Seminars in Oncology Nursing*“ vol. 13, no. 2, May 1997, pp. 135–140, [citirano 25.05.2024.] Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/s0749-2081\(97\)80011-3](https://doi.org/10.1016/s0749-2081(97)80011-3).
5. Rambousek L. Genetičko testiranje izravno ponuđeno potrošaču u Republici Hrvatskoj. 2022, Rijeka, Sveučilite u Rijeci, Medicinski fakultet [citirano 23.05.2024.] Dostupno na <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:413239>
6. Lau, Tze Kin, and Tse Ngong Leung. “Genetic Screening and Diagnosis.” *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, vol. 17, no. 2, Apr. 2005, pp. 163–169, [citirano 23.05.2024.] Dostupno na <https://doi.org/10.1097/01.gco.0000162187.99219.e0>
7. “Informacije Javnosti O Novorođenačkom Probiru.” *Www.kbc-Zagreb.hr*, [citirano 01.06.2024.]. Dostupno na [www.kbc-zagreb.hr/informacije-javnosti-o-novorodjenackom-probiru.aspx](http://www.kbc-zagreb.hr/informacije-javnosti-o-novorodjenackom-probiru.aspx)

8. Milošević, Danko, et al. *Farmakogenomika Nefrotskog Sindroma*. [citirano 23.05.2024.]. Dostupno na <https://hpps.com.hr/wp-content/uploads/2022/12/Dok-14-1.pdf>
9. Speicher, Michael R., and Nigel P. Carter. "The New Cytogenetics: Blurring the Boundaries with Molecular Biology." *Nature Reviews Genetics*, vol. 6, no. 10, 6 Sept. 2005, pp. 782–792, [citirano 23.05.2024.]. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/nrg1692>.
10. Genetic Alliance, and District of Columbia Department of Health. "Genetic Testing Methodologies." *Nih.gov*, Genetic Alliance, 17 Feb. 2010, [citirano 22.05.2024.]. Dostupno na: [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132150/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132150/)
11. "Understanding Cytogenetic Tests vs. Molecular Genetics Tests: A Beginner's Guide | Quest Diagnostics." *Www.questdiagnostics.com*, [citirano 23.05.2024.]. Dostupno na: [www.questdiagnostics.com/our-company/actions-insights/2023-blogs/understanding-cytogenetic-tests-vs--molecular-genetics-tests--a-beginner-s-guide](http://www.questdiagnostics.com/our-company/actions-insights/2023-blogs/understanding-cytogenetic-tests-vs--molecular-genetics-tests--a-beginner-s-guide)
12. Crkvenac Gornik, Kristina, et al. "Use of Microsatellite Loci in Prenatal and Postnatal Diagnosis of Aneuploidy and Uniparental Disomy." *Paediatrica Croatica*, vol. 59, no. 2, 26 June 2015, pp. 112–117, [citirano 25.05.2024.]. Dostupno na: <https://doi.org/10.13112/pc.2015.18>
13. Kauf L.. *Primjena mikročipova u otkrivanju genetskih uzoraka spontanih gubitaka trudnoća*. 2021. Zagreb, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. [citirano 02.06.2024.] Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:769961>
14. Sertić, Jadranka, et al. *Molekularna genetika-novosti u dijagnostici i terapiji*. Zagreb, Medicinska naklada, 2018.godina [citirano 10.05.2024.]

15. Jurković I. Genetsko testiranje u pedijatrijskoj neurologiji 2020. Rijeka: Sveučilište u Rijeci Medicinski fakultet, [citirano 10.06.2024.]. Dostupno na:  
<https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:438985>
16. Barišić I. “Aktualne teme u genetičkom informiranju.” *Paediatr Croat*, vol. 60, 2016, pp. 24–30, [citirano 13.06.2024.]. Dostupno na: <https://humana-genetika.org/wp-content/uploads/2019/02/prof-Bari%C5%A1i%C4%87-AKTUALNE-TEME-U-GENETI%C4%8CKOM-INFORMIRANJU-PaedCro2016-1.pdf>
17. Poslon Ž. *Retrospektivna studija dijagnostičkog sekvenciranja sljedeće generacije na Zavodu za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta u Rijeci od 2017. do 2021. godine*; 2022. Rijeka: Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci; [citirano 15.05.2024.]. Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:644634>
18. Bevanda, Anđela. *Klinička genomika u funkciji prevencije bolesti i očuvanja zdravlja djece*. 2021; Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet [citirano 10.06.2024.]. Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:066898>
19. Mikić, Sara . *Znanje, stavovi i ponašanje vezani uz medicinsku genetiku u specijalista i specijalizanata pedijatrije*. 2021, Rijeka, Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet fakultet [citirano 20.05.2024.] Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:383644>
20. Rudolf, Gorazd, and Borut Peterlin. *DNA testiranje u medicini/DNA Testing in Medicine Kratki Pregledni Članak / Mini-Review*. Vol. 45, no. 1, 2009, pp. 38–43, [citirano 25.05.2024.] Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/file/54934>
21. Bowling, Kevin M, et al. “Genome Sequencing as a First-Line Diagnostic Test for Hospitalized Infants.” *Genetics in Medicine*, vol. 24, no. 4, 1 Apr. 2022, pp. 851–861, [citirano 10.06.2024.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.gim.2021.11.020>
22. Lichstein, Jesse et al. “Children with Genetic Conditions in the United States: Prevalence Estimates from the 2016-2017 National Survey of Children’s Health.”

- Genetics in Medicine, vol. 24, no. 1, 30 Nov. 2021, pp. P170-178, [citirano 10.06.2024.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.gim.2021.09.004>
23. Quiat, Daniel, et al. “Retrospective Analysis of Clinical Genetic Testing in Pediatric Primary Dilated Cardiomyopathy: Testing Outcomes and the Effects of Variant Reclassification.” *Journal of the American Heart Association*, vol. 9, no. 11, 2 June 2020, [citirano 10.06.2024.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1161/jaha.120.016195>
24. Haiming, Yuan, et al. “CNV Profiles of Chinese Pediatric Patients with Developmental Disorders.” *Genetics in Medicine*, vol. 23, no. 4, Apr. 2021, pp. P669-678, [citirano 11.06.2024.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.gim.2021.09.004>
25. Gabriella, Lee, et al. “Factors Associated with the Time to Complete Clinical Exome Sequencing in a Pediatric Patient Population.” *Genetics in Medicine*, vol. 24, no. 10, 11 Aug. 2022, pp. P2028-2033, [citirano 11.06.2024.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.gim.2022.06.006>

## 10. ŽIVOTOPIS

Dora Primorac rođena je 7. listopada 1999. godine u Puli. Obrazovanje započinje u Osnovnoj školi Vladimira Gortana u Žminju, a zatim upisuje Gimnaziju i strukovnu školu Jurja Dobrile Pazin. Nakon završenog srednjoškolskog obrazovanja upisuje *Integralni preddiplomski i diplomski studij medicine* na Medicinskom fakultetu u Rijeci.

Tijekom studija bila je aktivni član udruga CroMSIC Rijeka i FOSS MedRi. Od 2021. godine vrši funkciju potpredsjednice Kongresa hitne medicine. Ističe se svojim humanitarnim radom.