

Primjena genske terapije u pedijatrijskoj populaciji

Špoljar, Valentina

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:847664>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-29**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Valentina Špoljar

Primjena genske terapije u pedijatrijskoj populaciji

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2024.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za biologiju Medicinskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Tamare Nikuševe Martić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2023/2024.

Mentorica rada: prof. dr. sc. Tamara Nikuševa Martić

Popis i objašnjenje kratica rabljenih u radu

engl. – engleski

AAV – adeno-asocirani virus

ADA – adenzin-deaminaza

ADA-SCID – teška kombinirana imunodeficijencija uzrokovana manjkom adenzin-deaminaze (*engl. adenosine deaminase severe combined immunodeficiency*)

AHP – akutna hepatička porfirija

ALL – akutna limfoblastična leukemija

ALAS1 – aminolevulinat sintaza 1

AML – akutna mijeloična leukemija

ARSA – arilsulfataza A

B-ALL – B-stanična akutna limfoblastična leukemija

BE – bulozna epidermoliza

CAR-T – kimerični antigenski receptor T-stanica (*engl. Chimeric Antigen Receptor T-cell*)

CALD – cerebralna adrenoleukodistrofija

CEP290 – gen CEP290 (*engl. CEP290 Gene*)

COL7A1 – gen COL7A1 (*engl. COL7A1 Gene*)

CRISPR-Cas9 – *engl. clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR associated protein 9*

DEB – distrofična bulozna epidermoliza

DLBCL – difuzni veliki B-stanični limfom (*engl. diffuse large B-cell lymphoma*)

EMA – Europska agencija za lijekove (*engl. European Medicines Agency*)

EMG – elektromiografija

ERG – elektrotretinogram

ERT – enzimaska nadomjesna terapija (engl. *enzyme replacement therapy*)

FDA – Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*)

FVIII – faktor VIII

GRHPR – gen GRHPR (engl. *GRHPR Gene*)

HbS – hemoglobin S

HBB – gen beta-globin (engl. *beta-globin gene*)

HCP – hereditarna koproporfirija (engl. *hereditary coproporphyrria*)

HOGA1 – gen HOGA1 (engl. *HOGA1 Gene*)

HSCT – transplantacija hematopoetskih matičnih stanica (engl. *hematopoietic stem cell transplantation*)

MLD – metakromatska leukodistrofija

NIH – Nacionalni instituti za zdravlje (engl. *National Institutes of Health*)

PH1 – primarna hiperoksalurija tip 1

RPE65 – gen RPE65 (engl. *RPE65 Gene*)

SCID – teška kombinirana imunodeficijencija (engl. *severe combined immunodeficiency*)

SMA – spinalna mišićna atrofija

SMN – engl. *survival motor neuron*

SMN1 – engl. *survival motor neuron 1*

SMN2 – engl. *survival motor neuron 2*

TALEN – efektorske nukleaze nalik aktivatoru transkripcije (engl. *transcription activator-like effector nuclease*)

ZFN – nukleaze cinkovih prstiju (engl. *zinc finger nuclease*)

SADRŽAJ

SAŽETAK.....	
1. UVOD	1
2. POVIJEST I RAZVOJ GENSKE TERAPIJE	2
2.1. Rani pokušaji i eksperimentalni pristupi	2
2.2. Ključni napredci i tehnološke inovacije	2
2.3. Klinički napredci i prva odobrenja	3
2.4. Tehnološke inovacije i budući smjerovi	4
3. OSNOVE GENETIKE I GENSKE TERAPIJE.....	5
3.1. Struktura i funkcija gena.....	5
3.2. Mutacije i genetski poremećaji.....	5
3.3. Principi genske terapije	5
3.4. Genska nadomjesna terapija	6
3.5. Genska korekcija	6
3.6. Antisense oligonukleotidi	7
3.7. Primjena genske terapije.....	7
4. GENETSKI POREMEĆAJI U PEDIJATRIJI	7
4.1. Nasljedne bolesti.....	8
4.2. Stečeni poremećaji.....	8
5. TEHNIKE GENSKE TERAPIJE.....	9
5.1. Genska nadomjesna terapija	9
5.2. Genska korekcija	9
5.3. Antisense oligonukleotidi	10
5.4. Vrste ugradnje nukleinskih kiselina	10
6. KLINIČKI PRIMJERI PRIMJENE GENSKE TERAPIJE	12
6.1. Spinalna mišićna atrofija	12
6.2. Duchenneova mišićna distrofija	14
6.3. Hemofilija A	16
6.4. Srpasta anemija.....	17
6.5. Beta talasemija.....	19
6.6. ADA-SCID	20

6.7. Hematološki maligniteti	22
6.8. Cerebralna adrenoleukodistrofija	23
6.9. Retinalna distrofija	26
6.10. Akutna hepatička porfirija	27
6.11. Primarna hiperoksalurija.....	29
6.12. Bulozna epidermoliza	30
7. PREDNOSTI I IZAZOVI GENSKE TERAPIJE U PEDIJATRIJI	32
7.1. Prednosti genske terapije u pedijatriji	32
7.2. Izazovi genske terapije u pedijatriji.....	33
8. ETIKA I REGULACIJA GENSKE TERAPIJE	34
8.1. Etika genske terapije.....	34
8.2. Regulacija genske terapije	35
9. BUDUĆNOST GENSKE TERAPIJE U PEDIJATRIJI	36
9.1. Tehnološki napredci i inovacije.....	36
9.2. Klinička istraživanja i primjene.....	36
10. SAŽETI PRIKAZ SVOJSTAVA LIJEKOVA	38
11. ZAKLJUČAK	41
ZAHVALE	
LITERATURA.....	
ŽIVOTOPIS	

SAŽETAK

Primjena genske terapije u pedijatrijskoj populaciji

Valentina Špoljar

Genska terapija predstavlja revolucionarni napredak u medicini, pružajući nove mogućnosti za liječenje i prevenciju genetskih poremećaja, posebno u pedijatrijskoj populaciji. Ovaj diplomski rad istražuje povijest i razvoj genske terapije, osnovne principe genetike, različite tehnike genske terapije, te kliničke primjere njene primjene u liječenju teških nasljednih bolesti kod djece.

Povijesni pregled obuhvaća rane eksperimente s prijenosom gena i ključne tehnološke inovacije, uključujući razvoj virusnih vektora i tehnologija za uređivanje gena poput CRISPR-Cas9. Osnove genetike objašnjavaju strukturu i funkciju gena, te kako mutacije mogu dovesti do genetskih poremećaja. Glavni pristupi genskoj terapiji uključuju gensku nadomjesnu terapiju, gensku korekciju i antisense oligonukleotide, svaki sa svojim specifičnim mehanizmima djelovanja i kliničkim primjenama.

Diplomski rad također detaljno razmatra genetske poremećaje u pedijatriji, uključujući spinalnu mišićnu atrofiju (SMA), Duchenneovu mišićnu distrofiju (DMD), hemofiliju A, srpastu anemiju, beta talasemiju i druge. Prikazani su klinički primjeri uspješne primjene genske terapije, ističući prednosti, kao što su dugoročno liječenje i poboljšanje kvalitete života, te izazove, uključujući imunološke reakcije i etička pitanja.

Posebna pažnja posvećena je važnosti rane intervencije kod djece kako bi genska terapija bila što učinkovitija. Rana dijagnoza i početak terapije mogu spriječiti progresiju bolesti i značajno poboljšati ishode liječenja.

U zaključku, genska terapija ima potencijal transformirati liječenje genetskih poremećaja u pedijatriji. Kontinuirano istraživanje, razvoj novih tehnologija i suradnja među znanstvenicima, kliničarima i regulatornim tijelima ključni su za ostvarivanje ovog potencijala. Genska terapija nudi nadu za liječenje nasljednih bolesti koje su do sada bile neizlječive i postavlja temelje za buduće inovacije u medicini koje će značajno poboljšati zdravlje i kvalitetu života djece širom svijeta.

Ključne riječi: genska terapija, pedijatrija, genetski poremećaji, klinički primjeri

SUMMARY

Application of Gene Therapy in the Pediatric Population

Valentina Špoljar

Gene therapy represents a revolutionary advancement in medicine, providing new possibilities for the treatment and prevention of genetic disorders, especially in the pediatric population. This thesis explores the history and development of gene therapy, fundamental principles of genetics, various gene therapy techniques, and clinical examples of its application in treating severe hereditary diseases in children.

The historical overview covers early experiments with gene transfer and key technological innovations, including the development of viral vectors and gene editing technologies like CRISPR-Cas9. The fundamentals of genetics explain the structure and function of genes, and how mutations can lead to genetic disorders. The main approaches to gene therapy include gene replacement therapy, gene correction, and antisense oligonucleotides, each with its specific mechanisms of action and clinical applications.

The thesis also thoroughly examines genetic disorders in pediatrics, including spinal muscular atrophy (SMA), Duchenne muscular dystrophy (DMD), hemophilia A, sickle cell anemia, beta-thalassemia, and others. Clinical examples of successful gene therapy applications are presented, highlighting benefits such as long-term treatment and improved quality of life, as well as challenges like immune responses and ethical issues.

Special attention is given to the importance of early intervention in children to maximize the effectiveness of gene therapy. Early diagnosis and initiation of therapy can prevent disease progression and significantly improve treatment outcomes.

In conclusion, gene therapy has the potential to transform the treatment of genetic disorders in pediatrics. Continued research, the development of new technologies, and collaboration among scientists, clinicians, and regulatory bodies are crucial to realizing this potential. Gene therapy offers hope for curing hereditary diseases that were previously untreatable and lays the foundation for future medical innovations that will significantly enhance the health and quality of life of children worldwide.

Keywords: gene therapy, pediatrics, genetic disorders, clinical examples

1. UVOD

Genska terapija predstavlja jednu od najvažnijih inovacija u modernoj medicini, nudeći nove mogućnosti za liječenje i prevenciju različitih genetskih poremećaja. Ova terapija uključuje uvođenje, uklanjanje ili izmjenu genetskog materijala unutar stanica pacijenta kako bi se ispravile greške u DNA koje uzrokuju bolesti. Razvoj genske terapije predstavlja prekretnicu u pristupu liječenju genetskih bolesti, osobito u pedijatrijskoj populaciji, gdje mnogi genetski poremećaji imaju značajan utjecaj na zdravlje i kvalitetu života djece (1).

Pedijatrijska populacija, koja uključuje djecu i adolescente do 18 godina starosti, zahtijeva specifične terapijske pristupe zbog fizioloških, psiholoških i razvojnih razlika u odnosu na odrasle. Genska terapija otvara nove mogućnosti za liječenje teških nasljednih bolesti kao što su Duchenneova mišićna distrofija (DMD) i spinalna mišićna atrofija (SMA), koje se često manifestiraju u ranoj dobi i značajno narušavaju kvalitetu života (2). Ove bolesti su karakterizirane mutacijama koje uzrokuju disfunkciju proteina ključnih za normalno funkcioniranje stanica i organa.

Duchenneova mišićna distrofija je nasljedna bolest uzrokovana mutacijama u distrofinskom genu, što dovodi do progresivne mišićne slabosti i degeneracije, uglavnom pogađajući mušku djecu (3). Spinalna mišićna atrofija je još jedan primjer genetskog poremećaja koji uzrokuje gubitak motornih neurona i mišićnu slabost zbog mutacija u SMN1 genu (4).

Primjena genske terapije u liječenju ovih bolesti donosi brojne prednosti, uključujući mogućnost dugoročnog liječenja i poboljšanja kvalitete života pacijenata. Tehnologije kao što su CRISPR-Cas9 omogućuju precizno uređivanje genoma, pružajući potencijal za trajno ispravljanje genetskih defekata (5). Međutim, postoje i značajni izazovi, uključujući imunološki odgovor na virusne vektore, etička pitanja vezana uz primjenu terapija u djece, te dugoročne sigurnosne aspekte koje je potrebno detaljno istražiti (1).

Cilj ovog rada je pružiti sveobuhvatan pregled primjene genske terapije u pedijatrijskoj populaciji, uključujući povijesni razvoj, osnovne principe, kliničke primjere, prednosti, izazove, etičke aspekte i perspektive za budućnost. Razmatranje ovih aspekata je ključno za razumijevanje potencijala i ograničenja genske terapije u liječenju genetskih poremećaja kod djece te za usmjeravanje budućih istraživanja i kliničkih primjena u ovom dinamičnom području medicine.

2. POVIJEST I RAZVOJ GENSKE TERAPIJE

2.1. Rani pokušaji i eksperimentalni pristupi

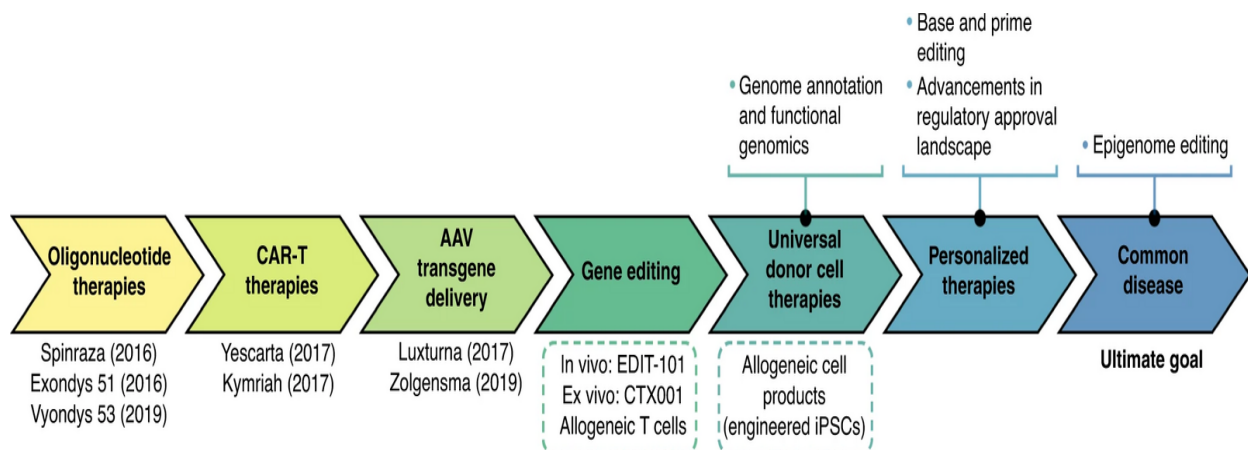
Povijest genske terapije započinje krajem 20. stoljeća, kada su znanstvenici prvi put počeli istraživati mogućnost korištenja gena za liječenje bolesti. Prvi značajni koraci napravljeni su 1970-ih godina, kada su istraživači počeli eksperimentirati s prijenosom gena u ljudske stanice koristeći virusne vektore. Ovi rani eksperimenti postavili su temelje za buduća istraživanja i razvoj tehnologija koje će omogućiti preciznije i učinkovitije metode genske terapije (6). Jedan od prvih značajnih uspjeha u području genske terapije dogodio se 1990. godine, kada su znanstvenici po prvi put uspješno koristili gensku terapiju za liječenje ljudske bolesti. Tim istraživača s *National Institutes of Health* (NIH) u Sjedinjenim Američkim Državama liječio je djevojčicu oboljelu od teške kombinirane imunodeficijencije (SCID) korištenjem retrovirusnih vektora za prijenos funkcionalnog ADA gena u njene T-stanice. Ovaj uspjeh označio je početak nove ere u medicini, gdje je genska terapija postala realna mogućnost za liječenje genetskih bolesti (7).

2.2. Ključni napredci i tehnološke inovacije

Tijekom 1990-ih i 2000-ih godina, genska terapija doživjela je niz ključnih napredaka i tehnoloških inovacija. Razvoj različitih tipova virusnih vektora, uključujući adenovirusne, lentivirusne i adeno-asocirane viruse (AAV), omogućio je učinkovitiji prijenos gena u ciljne stanice. Ovi vektori postali su ključni alati u genskoj terapiji zbog svoje sposobnosti da prenose genetski materijal u stanice s visokom učinkovitošću i specifičnošću (8). Jedan od najvažnijih napredaka u genskoj terapiji bio je razvoj tehnologija za uređivanje gena. Tehnologije kao što su CRISPR-Cas9, TALEN i ZFN (nukleaze cinkovih prstiju) omogućile su znanstvenicima precizno mijenjanje genetskog materijala unutar stanica. CRISPR-Cas9, posebno, postao je revolucionarna tehnologija zbog svoje jednostavnosti, preciznosti i učinkovitosti. Ova tehnologija koristi vodič RNA za ciljanje specifičnih sekvenci DNA, omogućujući znanstvenicima da precizno uređuju gene na mjestima gdje su prisutne mutacije koje uzrokuju bolesti (9).

2.3. Klinički napredci i prva odobrenja

Prvi klinički uspjesi genske terapije potaknuli su daljnja istraživanja i klinička ispitivanja. Godine 2012., Europska agencija za lijekove (EMA) odobrila je Glyberu, prvu gensku terapiju za liječenje lipoprotein lipaza deficijencije, rijetke genetske bolesti koja uzrokuje teške pankreatitise. Iako Glybera nije postigla komercijalni uspjeh, njeno odobrenje označilo je važan korak u regulaciji i prihvaćanju genske terapije (10). U Sjedinjenim Američkim Državama, prvi veliki uspjeh genske terapije postignut je 2017. godine, kada je Američka agencija za hranu i lijekove (FDA) odobrila Kymriah, gensku terapiju za liječenje akutne limfoblastične leukemije (ALL) kod djece i mladih odraslih. Kymriah koristi CAR-T tehnologiju, gdje se pacijentove T-stanice genetski modificiraju kako bi ciljale i uništavale stanice raka. Ovaj uspjeh otvorio je vrata za daljnji razvoj i odobrenje drugih genskih terapija za različite vrste raka (11).



Slika 1. Odobreni tretmani i godina njihovog odobrenja, kao i istraživačke terapije (u isprekidanim okvirima) prikazani su ispod svake prekretnice. Daljnje istraživanje alternativnih terapijskih pristupa i temeljnih znanstvenih pitanja još je potrebno za postizanje kasnijih prekretnica (prikazano u točkama) (91). (Karen Bulaklak & Charles A. Gersbach, CC BY 4.0 <<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>>, putem Zajedničkog poslužitelja)

2.4. Tehnološke inovacije i budući smjerovi

Suvremena istraživanja i razvoj u genskoj terapiji usmjereni su na poboljšanje sigurnosti, učinkovitosti i pristupačnosti terapija. Razvoj novih vektora, poboljšanje tehnologija za uređivanje gena i istraživanje nevirusnih metoda prijenosa gena predstavljaju ključne aspekte budućeg napretka u ovom području. Primjena umjetne inteligencije i strojnog učenja u dizajnu genskih terapija također nudi nove mogućnosti za optimizaciju i personalizaciju terapija (12). Uvođenje genske terapije u kliničku praksu predstavlja kompleksan proces koji zahtijeva temeljita istraživanja, regulaciju i etički nadzor. Međutim, potencijal ove tehnologije za trajno liječenje genetskih bolesti pruža nadu milijunima pacijenata širom svijeta.

3. OSNOVE GENETIKE I GENSKE TERAPIJE

3.1. Struktura i funkcija gena

Geni su osnovne jedinice nasljeđivanja koje se nalaze u DNA (deoksiribonukleinska kiselina). DNA se sastoji od dvije spiralno uvijene niti koje čine dvostruku zavojnicu. Svaka nit je sastavljena od nukleotida, koji se sastoje od šećera (deoksiriboze), fosfatne skupine i jedne od četiri dušične baze: adenina (A), timina (T), citozina (C) i gvanina (G). Sekvenca ovih baza određuje genetske informacije koje geni nose. Geni su segmenti DNA koji kodiraju specifične proteine ili RNA molekule. Struktura gena uključuje egzonske regije koje kodiraju proteine, intronske regije koje ne kodiraju proteine, te promotorske regije koje reguliraju ekspresiju gena (13). Ekspresija gena proces je kojim se informacije iz gena koriste za sintezu funkcionalnih proteina ili RNA molekula.

3.2. Mutacije i genetski poremećaji

Mutacije su promjene u sekvenci DNA koje mogu utjecati na strukturu i funkciju proteina. Mogu biti uzrokovane različitim čimbenicima, uključujući kemijske agense, zračenje, virusne infekcije ili nasljeđivanje. Postoje različite vrste mutacija, uključujući točkaste mutacije (promjena jedne baze), delecije (gubitak dijela DNA sekvence), duplikacije (umnožavanje dijela DNA sekvence) i kromosomske aberacije (strukturne promjene kromosoma) (5). Genetski poremećaji nastaju kada mutacije uzrokuju disfunkciju proteina koji su ključni za normalne biološke procese. Nasljedne bolesti, kao što su Duchenneova mišićna distrofija i spinalna mišićna atrofija, rezultat su mutacija u specifičnim genima koje se prenose s roditelja na potomke (3). Ovi poremećaji mogu imati značajan utjecaj na zdravlje i kvalitetu života pacijenata.

3.3. Principi genske terapije

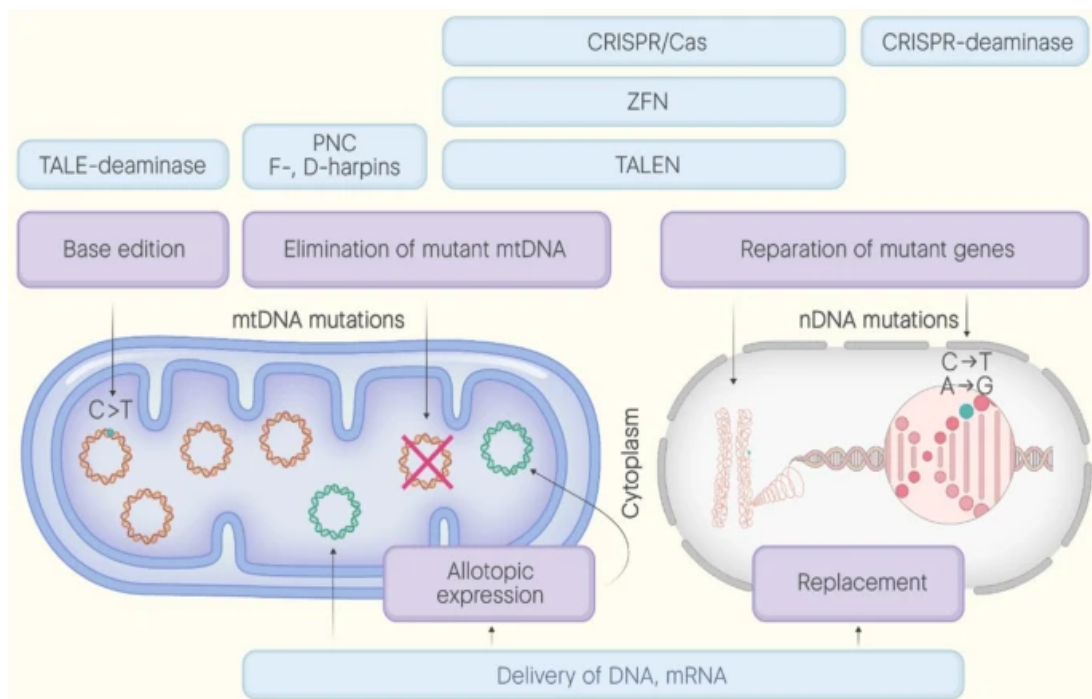
Genska terapija je medicinska tehnika koja uključuje izmjenu genetskog materijala unutar stanica pacijenta s ciljem liječenja ili prevencije bolesti. Postoje tri glavna pristupa genskoj terapiji: genska nadomjesna terapija, genska korekcija i antisense oligonukleotidi (1).

3.4. Genska nadomjesna terapija

Genska nadomjesna terapija uključuje uvođenje zdravog gena u stanice pacijenta kako bi se nadomjestio ili popravio defektni gen. Ova tehnika najčešće koristi virusne vektore, kao što su adenovirusi, lentivirusi i adeno-asocirani virusi (AAV), koji učinkovito prenose terapijski gen u ciljne stanice (4). Primjer uspješne genske nadomjesne terapije je terapija za spinalnu mišićnu atrofiju (SMA), gdje se koristi AAV vektor za prijenos zdravog SMN1 gena u motorne neurone pacijenata.

3.5. Genska korekcija

Genska korekcija uključuje precizno ispravljanje mutacija unutar gena pomoću tehnologija kao što su CRISPR-Cas9, TALEN i ZFN (nukleaze cinkovih prstiju). CRISPR-Cas9 koristi specifične RNA vodiče za ciljanje i rezanje DNA na točnom mjestu, omogućujući izmjenu ili popravak mutiranog gena (5). Ova tehnologija je revolucionirala gensku terapiju zbog svoje preciznosti, učinkovitosti i fleksibilnosti.



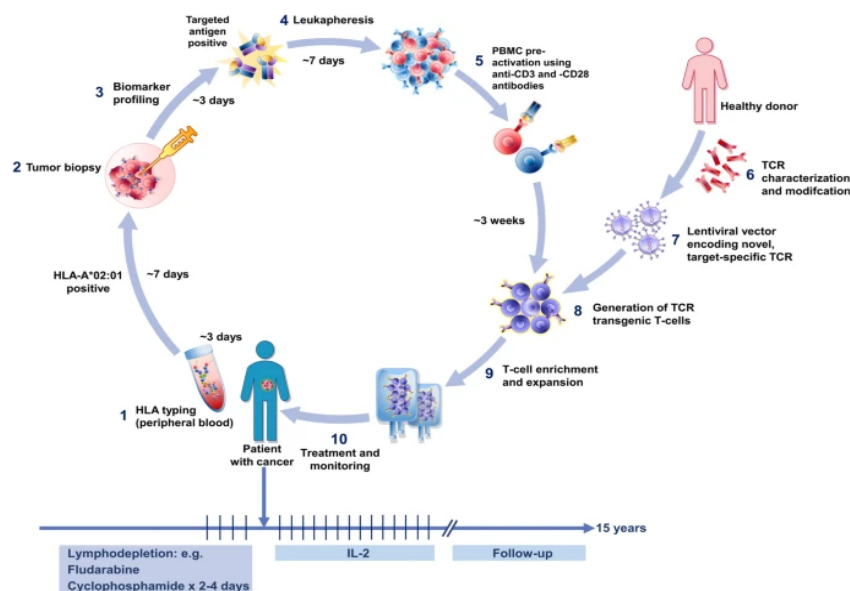
Slika 2. Višestruki pristupi genskoj terapiji za liječenje mitohondrijskih bolesti (92). (Vladislav O. Soldatov, Marina V. Kubekina, Marina Yu. Skorkina, Andrei E. Belykh, Tatiana V. Egorova, Mikhail V. Korokin, Mikhail V. Pokrovskiy, Alexey V. Deykin & Plamena R. Angelova, CC BY 4.0 <<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>>, putem Zajedničkog poslužitelj

3.6. Antisense oligonukleotidi

Antisense oligonukleotidi su kratki sintetički lanci nukleotida koji se vežu za specifične mRNA molekule i sprječavaju njihovu translaciju u proteine. Ova tehnika može smanjiti ekspresiju štetnih gena i koristi se u liječenju različitih genetskih poremećaja, uključujući Duchenneovu mišićnu distrofiju (2).

3.7. Primjena genske terapije

Primjena genske terapije u pedijatrijskoj populaciji donosi brojne prednosti, uključujući mogućnost dugoročnog liječenja genetskih bolesti, smanjenje potrebe za stalnim medicinskim intervencijama i poboljšanje kvalitete života pacijenata. Međutim, postoje i značajni izazovi, uključujući imunološki odgovor na virusne vektore, etička pitanja i dugoročne sigurnosne aspekte koje je potrebno detaljno istražiti (14). Genska terapija nastavlja se razvijati i napredovati, donoseći nova rješenja za liječenje genetskih poremećaja. Razvoj novih tehnologija, poboljšanje sigurnosti i učinkovitosti terapija, te etički i regulacijski nadzor ključni su za uspješnu implementaciju genske terapije u kliničku praksu i pružanje bolje budućnosti za pacijente s genetskim poremećajima.



Slika 3. Shema terapije T-stanicama usmjerene na TCR (93). (Apostolia-Maria Tsimberidou, Karlyle Van Morris, Henry Hiep Vo, Stephen Eck, Yu-Feng Lin, Jorge Mauricio Rivas & Borje S. Andersson, CC BY 4.0 <<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>>, putem Zajedničkog poslužitelja)

4. GENETSKI POREMEĆAJI U PEDIJATRIJI

4.1. Nasljedne bolesti

Nasljedne bolesti su poremećaji uzrokovani mutacijama u genima koji se prenose s roditelja na djecu. Ovi poremećaji mogu biti autosomno dominantni, autosomno recesivni ili X-vezani, ovisno o tome kako se mutirani geni nasljeđuju. Pedijatrijska populacija često pati od različitih nasljednih bolesti koje mogu značajno utjecati na njihov razvoj i kvalitetu života. Nasljedne bolesti nastaju zbog mutacija koje mijenjaju normalnu funkciju gena, uzrokujući disfunkciju proteina koje ti geni kodiraju. Ove bolesti se mogu klasificirati na temelju načina nasljeđivanja:

- a) autosomno dominantne bolesti: ove bolesti nastaju kada je mutacija prisutna na samo jednoj kopiji gena (od jednog roditelja). Primjeri uključuju akutnu hepatičku porfiriju, retinalnu distrofiju i buloznu epidermolizu.
- b) autosomno recesivne bolesti: ove bolesti zahtijevaju dvije kopije mutiranog gena (jednu od svakog roditelja). Primjeri uključuju primarnu hiperoksaluriju, spinalnu mišićnu atrofiju, srpastu anemiju, beta talasemiju, ADA-SCID i retinalnu distrofiju.
- c) X-vezane bolesti: ove bolesti su povezane s mutacijama na X kromosomu. Muškarci su češće pogođeni jer imaju samo jedan X kromosom, dok žene mogu biti nositelji. Primjeri uključuju hemofiliju, Duchenneovu mišićnu distrofiju, cerebralnu adrenoleukodistrofiju i retinalnu distrofiju.

4.2. Stečeni poremećaji

Stečeni poremećaji uključuju bolesti koje nisu rezultat nasljednih genetskih mutacija, već se razvijaju zbog vanjskih čimbenika ili promjena u tijelu tijekom vremena. Iako genetski predisponirajući čimbenici mogu igrati ulogu, stečeni poremećaji u pedijatrijskoj populaciji često uključuju infekcije, imunološke poremećaje i onkološke bolesti.

Jedan od najčešćih stečenih poremećaja u dječjoj dobi su onkološke bolesti, poput leukemije i limfoma. Akutna limfoblastična leukemija (ALL) je najčešći tip raka kod djece. ALL se razvija kada limfoblasti, nezrele bijele krvne stanice, postanu maligne i nekontrolirano se razmnožavaju. Liječenje obično uključuje kemoterapiju, a u nekim slučajevima i transplantaciju koštane srži (1). Genska terapija, uključujući CAR-T stanične terapije kao što je Kymriah, pokazala je izuzetne rezultate u liječenju akutne limfoblastične leukemije, pružajući novu nadu za pacijente otporne na tradicionalne terapije.

5. TEHNIKE GENSKE TERAPIJE

5.1. Genska nadomjesna terapija

Genska nadomjesna terapija je tehnika koja se koristi za uvođenje zdravih kopija gena u stanice pacijenta kako bi se nadomjestio ili popravio defektni gen. Ova tehnika često koristi virusne vektore, koji su modificirani virusi sposobni prenositi genetski materijal u stanice bez izazivanja bolesti. Virusni vektori su dizajnirani da budu sigurni i učinkoviti u prijenosu gena. Najčešće korišteni vektori uključuju adenoviruse, lentiviruse i adeno-asocirane viruse (AAV) (5). Adenovirusi su često korišteni vektori zbog svoje sposobnosti da učinkovito prenose velike fragmente DNA. Oni ne integriraju svoj genetski materijal u genom domaćina, što smanjuje rizik od genetskih mutacija, ali također znači da učinak može biti privremen jer se genetski materijal gubi tijekom stanične diobe (2). Lentivirusi, koji uključuju modificirane verzije HIV-a, imaju sposobnost integracije svojeg genetskog materijala u genom domaćina. To omogućuje trajnu ekspresiju terapijskog gena u stanicama koje se dijele. Lentivirusni vektori su osobito korisni za terapije koje zahtijevaju dugotrajnu ekspresiju gena, kao što je liječenje genetskih bolesti krvi (3). AAV (adeno-asocirani virusi) vektori su popularni zbog svoje sigurnosti i učinkovitosti. Oni ne uzrokuju bolesti i imaju nisku imunogenost, što smanjuje rizik od imunološkog odgovora. AAV vektori su korišteni u uspješnim kliničkim ispitivanjima za liječenje bolesti kao što su spinalna mišićna atrofija (SMA) i hemofilija (4).

5.2. Genska korekcija

Genska korekcija je tehnika koja omogućuje precizno ispravljanje mutacija unutar gena koristeći napredne tehnologije za uređivanje gena. Ove tehnologije uključuju CRISPR-Cas9, TALEN i ZFN (nukleaze cinkovih prstiju), koje omogućuju znanstvenicima da ciljano mijenjaju specifične sekvence DNA. CRISPR-Cas9 je najpoznatija i najčešće korištena tehnologija za gensku korekciju zbog svoje jednostavnosti, preciznosti i učinkovitosti. CRISPR-Cas9 koristi vodič RNA molekulu koja prepoznaje specifičnu sekvencu DNA, dok Cas9 enzim reže DNA na točno određenom mjestu. Nakon rezanja, stanični mehanizmi za popravak DNA mogu popraviti mutaciju ili umetnuti novi genetski materijal (5). Ova tehnologija je revolucionirala gensku terapiju i omogućila razvoj terapija za razne genetske poremećaje, uključujući Duchenneovu mišićnu distrofiju i srpastu anemiju. TALEN (*Transcription Activator-Like Effector Nucleases*) su proteini koji se sastoje od specifičnih sekvenci DNA koje prepoznaju i vežu se za ciljne sekvence DNA, te nukleaza domene koja

reže DNA. TALEN omogućuju precizno uređivanje gena, ali su složeniji za dizajn i proizvodnju u usporedbi s CRISPR-Cas9 (1). TALEN su korišteni u istraživanjima za ispravljanje mutacija u genima povezanim s raznim nasljednim bolestima. ZFN (nukleaze cinkovih prstiju) su umjetno stvoreni proteini koji kombiniraju cink-prst DNA-vezujuće domene s nukleazama. Ova tehnologija omogućuje precizno ciljanje i rezanje specifičnih sekvenci DNA, što omogućuje zamjenu ili popravak mutiranih gena. ZFN su među prvim tehnologijama za uređivanje gena koje su razvijene i korištene u genskoj terapiji (2). Iako su ZFN tehnologije manje fleksibilne u usporedbi s CRISPR-Cas9, one su i dalje korisne za specifične primjene gdje je potrebna visoka preciznost.

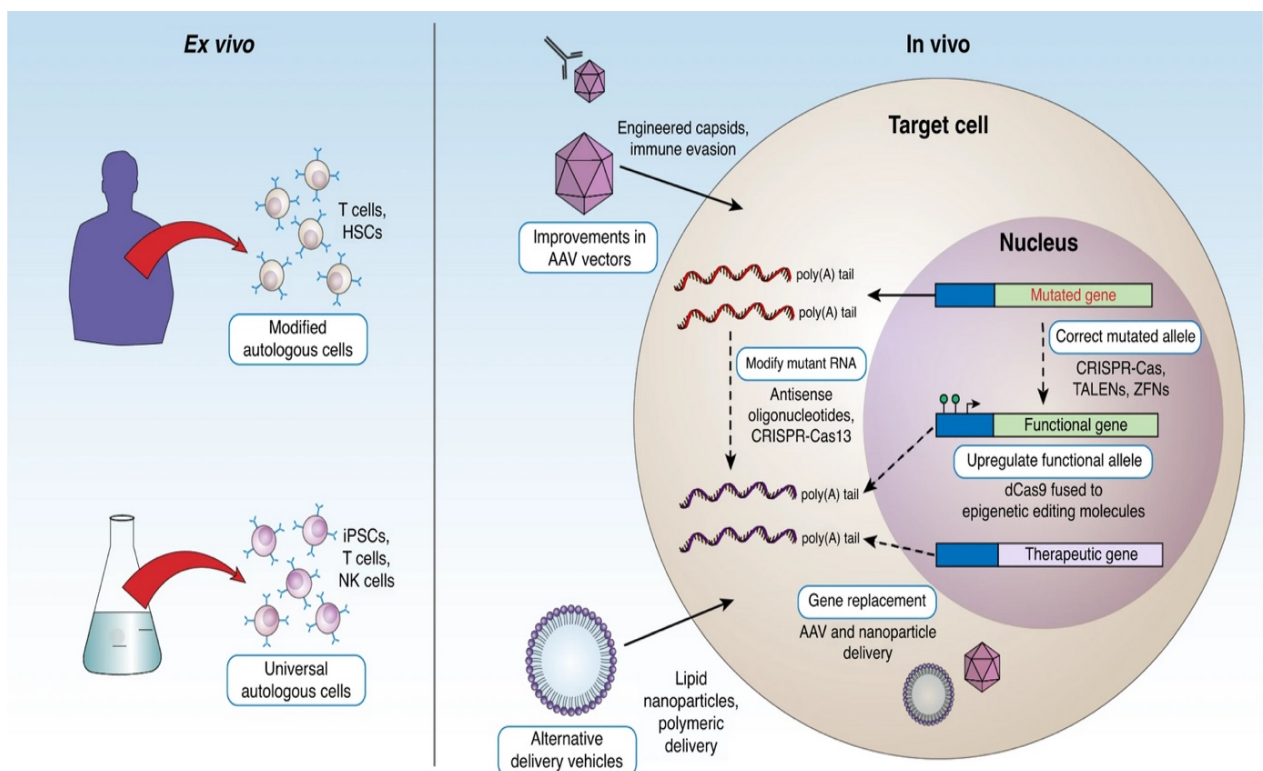
5.3. Antisense oligonukleotidi

Antisense oligonukleotidi su kratki sintetički lanci nukleotida koji se vežu za specifične mRNA proteine i sprječavaju njihovu translaciju u protein. Ova tehnika može smanjiti ekspresiju štetnih gena i koristi se u liječenju različitih genetskih poremećaja, uključujući Duchenneovu mišićnu distrofiju i spinalnu mišićnu atrofiju (SMA) (4). Antisense oligonukleotidi djeluju tako da hibridiziraju s ciljanom mRNA molekulom, sprječavajući njeno prevođenje u protein. Na taj način, ekspresija štetnih ili mutiranih proteina može biti smanjena ili potpuno eliminirana. Ova tehnika je osobito korisna za bolesti uzrokovane toksičnim proteinima ili mutacijama koje dovode do pretjerane proizvodnje proteina (5). Antisense oligonukleotidi su pokazali značajna obećanja u liječenju nasljednih bolesti kao što su Duchenneova mišićna distrofija (DMD) i spinalna mišićna atrofija (SMA). Na primjer, nusinersen (Spinraza) je antisense oligonukleotid koji je odobren za liječenje spinalne mišićne atrofije. Djeluje tako da modificira *splicing* SMN2 mRNA, povećavajući proizvodnju funkcionalnog SMN proteina, što poboljšava kliničke ishode kod pacijenata sa spinalnom mišićnom atrofijom (4).

5.4. Vrste ugradnje nukleinskih kiselina

Postoje različite metode za ugradnju nukleinskih kiselina u stanice pacijenta, koje se razlikuju po načinu dostave, stabilnosti i učinkovitosti. *In vivo* ugradnja podrazumijeva dostavu nukleinskih kiselina izravno u tijelo pacijenta. Ova metoda može koristiti različite vektore, uključujući virusne vektore, liposome i nanočestice. Virusni vektori, kao što su adenovirusi i

AAV, često se koriste za ovu vrstu ugradnje zbog svoje učinkovitosti u prijenosu gena u ciljne stanice (4). *Ex vivo* ugradnja uključuje uklanjanje stanica iz tijela pacijenta, modifikaciju tih stanica u laboratoriju i vraćanje modificiranih stanica natrag u tijelo pacijenta. Ova metoda omogućuje precizniju kontrolu nad procesom ugradnje i može smanjiti rizik od imunoloških reakcija. *Ex vivo* ugradnja se često koristi u liječenju genetskih bolesti krvi, kao što je beta-talasemija, gdje se matične stanice iz koštane srži modificiraju i vraćaju u pacijenta (5). Fizičke metode ugradnje uključuju tehnike kao što su elektroporacija, mikroinjekcija i sonoporacija. Elektroporacija koristi električne impulse za stvaranje privremenih pora u staničnoj membrani kroz koje nukleinske kiseline mogu ući u stanicu. Mikroinjekcija uključuje izravno ubrizgavanje DNA ili RNA u stanicu pomoću mikropipete. Sonoporacija koristi ultrazvuk za stvaranje privremenih pora u staničnoj membrani. Ove metode se često koriste u laboratorijskim istraživanjima i mogu biti korisne za specifične kliničke primjene (2).



Slika 4. Za *ex vivo* pristupe (lijevi panel), autologne stanice mogu se direktno izolirati od pacijenta i genetski modificirati kako bi izazvale terapijski učinak, dok se alogene stanice mogu proizvesti i biti odmah dostupne “s police.” *In vivo* strategije zahtijevaju ciljanje specifičnih stanica kako bi se omogućila prekomjerna ekspresija terapijskog gena ili ispravili patološki mehanizmi kako bi se omogućila funkcionalna ekspresija gena (isprekidane strelice) (91). (Karen Bulaklak & Charles A. Gersbach, CC BY 4.0 <<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>>, putem Zajedničkog poslužitelja)

6. KLINIČKI PRIMJERI PRIMJENE GENSKE TERAPIJE

6.1. Spinalna mišićna atrofija

Spinalna mišićna atrofija (SMA) je nasljedna neurodegenerativna bolest koja se karakterizira gubitkom motornih neurona u kralježničnoj moždini, što dovodi do progresivne mišićne slabosti i atrofije. SMA je uzrokovana mutacijama u SMN1 genu, koji kodira protein SMN (*survival motor neuron*) ključan za preživljenje i funkciju motornih neurona. Bolest se nasljeđuje autosomno recesivno, a najteži oblici bolesti obično se manifestiraju u ranoj dobi (15). Simptomi variraju ovisno o tipu bolesti, a uključuju slabost mišića, smanjen tonus mišića (hipotoniju), poteškoće s disanjem i gutanjem, te gubitak motoričkih sposobnosti. Tip I, poznat i kao Werdnig-Hoffmannova bolest, je najteži oblik koji se obično manifestira prije šestog mjeseca života i često dovodi do smrti prije druge godine bez intervencije (16). Dijagnoza uključuje kliničku procjenu, elektromiografiju (EMG) i genetsko testiranje koje potvrđuje mutacije u SMN1 genu. Liječenje je značajno napredovalo s razvojem novih terapija koje uključuju nusinersen (Spinraza), gensku terapiju onasemnogene abeparovec (Zolgensma) i molekule koje moduliraju *splicing*, poput risdiplam-a (Evrysdi). Ove terapije povećavaju proizvodnju SMN proteina i poboljšavaju motoričku funkciju, značajno mijenjajući prirodni tijek bolesti (17).

Zolgensma (onasemnogene abeparovec-xioi) je genska terapija odobrena za liječenje spinalne mišićne atrofije (SMA) kod djece mlađe od 2 godine. SMA je nasljedna neuromišićna bolest uzrokovana mutacijama u SMN1 genu, koje dovode do smanjenja razine proteina SMN (*survival motor neuron*). Ovaj protein je ključan za preživljavanje i funkciju motornih neurona. Bez adekvatne razine SMN proteina, motorni neuroni propadaju, što rezultira progresivnim gubitkom mišićne snage i funkcije (17). Zolgensma koristi adeno-asocirani virus (AAV) kao vektor za isporuku funkcionalne kopije SMN1 gena u motorne neurone pacijenta. Jednokratnom intravenskom infuzijom, vektor unosi funkcionalni gen u stanice, omogućujući im proizvodnju SMN proteina. Ova metoda pruža dugoročno rješenje koje potencijalno može zaustaviti napredovanje bolesti i poboljšati motorne funkcije (18). Klinička ispitivanja Zolgensme pokazala su značajna poboljšanja u preživljavanju i motoričkim funkcijama kod djece s SMA tipom 1. U kliničkom ispitivanju STRIVE, većina djece koja su primila Zolgensmu postigla su motoričke prekretnice kao što su sjedenje bez potpore, što je rijetko kod neliječenih pacijenata (18). Zolgensma je uglavnom dobro podnošljiva, s najčešćim nuspojavama uključujući povišene jetrene enzime i povraćanje. Dugoročna sigurnost još uvijek se prati, ali dosadašnji podaci su obećavajući (18).

Spinraza (nusinersen) je antisense oligonukleotidna terapija koja je prva odobrena za liječenje SMA svih tipova. Djeluje povećavajući proizvodnju funkcionalnog SMN proteina iz SMN2 gena, koji inače proizvodi nedovoljnu količinu SMN proteina zbog alternativnog *splicinga* (19). Spinraza se primjenjuje intratekalno, što znači da se injektira izravno u cerebrospinalnu tekućinu. Spinraza modificira *splicing* SMN2 pre-mRNA, potičući uključivanje eksona 7, što rezultira povećanom proizvodnjom funkcionalnog SMN proteina (19). Klinička ispitivanja Spinraze pokazala su značajna poboljšanja u preživljavanju i motoričkim funkcijama kod djece sa spinalnom mišićnom atrofijom. U kliničkom ispitivanju ENDEAR, djeca koja su primala Spinrazu imala su znatno veće šanse za postizanje motoričkih prekretnica u usporedbi s neliječenom djecom (19). Spinraza je općenito dobro podnošljiva, s najčešćim nuspojavama uključujući glavobolju, bol u leđima i post-punkcijski sindrom. Rijetke, ali ozbiljne nuspojave mogu uključivati infekcije i respiratorne probleme (19).

Evrysdi (risdiplam) je prvi oralni lijek za liječenje spinalne mišićne atrofije, odobren za pacijente svih dobnih skupina. Djeluje povećavajući proizvodnju SMN proteina iz SMN2 gena, sličnim mehanizmom kao Spinraza, ali se primjenjuje oralno (20). Evrysdi djeluje tako što stabilizira SMN2 pre-mRNA, potičući uključivanje eksona 7, što rezultira povećanom proizvodnjom funkcionalnog SMN proteina. Ovaj lijek se primjenjuje svakodnevno oralno, što omogućuje kontinuirano povećanje razine SMN proteina (20). Klinička ispitivanja Evrysdi pokazala su poboljšanja u motoričkim funkcijama i preživljavanju kod djece sa spinalnom mišićnom atrofijom. U kliničkom ispitivanju FIREFISH, dojenčad koja su primala Evrysdi postigla su motoričke prekretnice koje su rijetko viđene kod neliječenih pacijenata (20). Evrysdi je uglavnom dobro podnošljiv, s najčešćim nuspojavama uključujući groznicu, osip i proljev. Dugoročna sigurnost još uvijek se prati, ali dosadašnji podaci su obećavajući (20).

Lijekovi Zolgensma, Spinraza i Evrysdi predstavljaju značajan napredak u liječenju spinalne mišićne atrofije, pružajući različite terapijske opcije koje mogu poboljšati preživljavanje i kvalitetu života pacijenata s ovom teškom genetskom bolesti. Klinička ispitivanja su pokazala visoku učinkovitost ovih lijekova, čime se značajno unapređuje terapijski pristup spinalnoj mišićnoj atrofiji.

6.2. Duchenneova mišićna distrofija

Duchenneova mišićna distrofija (DMD) je teška, nasljedna neuromuskularna bolest koja se javlja gotovo isključivo kod dječaka. Uzrokovana je mutacijama u DMD genu koji kodira distrofin, protein esencijalan za strukturu i funkciju mišićnih vlakana. Bez distrofina, mišićne stanice postaju krhke, sklone oštećenjima i na kraju propadaju, što dovodi do progresivne mišićne slabosti i gubitka funkcije (21). Prvi simptomi obično se javljaju u ranoj dječjoj dobi, između druge i četvrte godine života. Djeca s DMD-om često imaju kašnjenja u motoričkom razvoju, poteškoće s hodanjem, česte padove i probleme s penjanjem stepenicama. Kako bolest napreduje, djeca postaju ovisna o invalidskim kolicima obično do dvanaeste godine života. U kasnijim fazama bolesti dolazi do zahvaćanja respiratornih mišića i srčanog mišića, što može biti smrtonosno u kasnim tinejdžerskim godinama ili ranoj odrasloj dobi (22). Dijagnoza se temelji na kliničkoj evaluaciji, mjerenju razine kreatin kinaze (CK) u krvi, elektromiografiji (EMG), i genetskom testiranju koje potvrđuje mutaciju u DMD genu. Trenutni tretmani uključuju kortikosteroide za usporavanje progresije bolesti, fizioterapiju, ortopedske uređaje, i multidisciplinarnu skrb za upravljanje komplikacijama. Nedavne terapije, uključujući gensku terapiju i lijekove za prelaženje okvira mutacija poput eteplirsena, pokazale su obećavajuće rezultate u kliničkim ispitivanjima (23).

Translarna, poznat i kao ataluren, je inovativni lijek razvijen za liječenje Duchenneove mišićne distrofije (DMD) uzrokovane besmislenim (*nonsense*) mutacijama u DMD genu. Ovaj lijek omogućava ribosomu da prijeđe preko preuranjenog stop kodona, čime se omogućuje sinteza funkcionalnog distrofina, ključnog proteina za stabilnost i funkciju mišićnih vlakana (24). Ataluren djeluje tako da potiče ribosome na ignoriranje preuranjenih stop kodona tijekom translacije, omogućujući sintezu punog, funkcionalnog distrofina. Na taj način, ataluren smanjuje progresiju mišićne degeneracije i poboljšava mišićnu funkciju kod pacijenata s DMD-om (24). Klinička ispitivanja pokazala su da ataluren može usporiti gubitak hodne sposobnosti kod djece s DMD-om. Studija faze 2b pokazala je poboljšanje u udaljenosti hodanja na testu šestominutnog hodanja kod pacijenata liječenih atalurenom u usporedbi s placebom (25). Ataluren se primjenjuje oralno tri puta dnevno. Preporučena doza ovisi o tjelesnoj težini pacijenta, a terapija se nastavlja dugoročno kako bi se postigli optimalni rezultati (25).

Exondys 51, ili eteplirsen, je lijek za DMD dizajniran za pacijente s mutacijama u DMD genu koji su pogodni za preskakanje eksona 51. Eteplirsen je antisense oligonukleotid koji potiče preskakanje eksona 51 tijekom spajanja pre-mRNA, omogućujući proizvodnju

funkcionalnog, iako skraćenog, distrofina (26). Eteplirsen veže se na specifične sekvence RNA u pre-mRNA distrofina, čime uzrokuje preskakanje eksona 51 tijekom procesa spajanja RNA. Ovo preskakanje omogućuje sintezu funkcionalnog distrofina, što pomaže u očuvanju mišićne funkcije (26). U kliničkim ispitivanjima, eteplirsen je pokazao povećanje razine distrofina u mišićnom tkivu i poboljšanje u hodnoj sposobnosti kod djece s DMD-om. Studija faze 2b pokazala je značajno smanjenje stope gubitka hodne sposobnosti kod pacijenata liječenih eteplirsenom (27). Eteplirsen se primjenjuje intravenozno jednom tjedno. Doziranje se temelji na tjelesnoj težini pacijenta, a liječenje je kontinuirano kako bi se održala razina distrofina i mišićna funkcija (27).

Amondys 45, ili casimersen, je antisense oligonukleotid za DMD pacijente s mutacijama koji su pogodni za preskakanje eksona 45. Casimersen djeluje sličnim mehanizmom kao i eteplirsen, ciljajući specifične sekvence RNA kako bi omogućio preskakanje eksona 45 i proizvodnju funkcionalnog distrofina (28). Casimersen veže se na pre-mRNA distrofina, uzrokujući preskakanje eksona 45 tijekom spajanja RNA. Ovo omogućuje sintezu kraćeg, ali funkcionalnog distrofina, što doprinosi očuvanju mišićne funkcije kod pacijenata s DMD-om (28). Klinička ispitivanja casimersena pokazala su povećanje razine distrofina u mišićnom tkivu i poboljšanje hodne sposobnosti. U studiji faze 3, pacijenti liječeni casimersenom pokazali su stabilizaciju hodne sposobnosti u usporedbi s placebom (29). Casimersen se primjenjuje intravenozno jednom tjedno, s dozom prilagođenom tjelesnoj težini pacijenta. Kontinuirano liječenje je potrebno kako bi se održale razine distrofina i mišićna funkcija (29).

Viltolarsen, ili Viltepsa, je još jedan antisense oligonukleotid za liječenje Duchenneove mišićne distrofije koji djeluje preskakanjem eksona 53. Ovaj lijek omogućuje proizvodnju funkcionalnog distrofina u pacijenata s mutacijama koje omogućuju preskakanje eksona 53 (30). Viltolarsen veže se na specifične sekvence pre-mRNA distrofina, omogućujući preskakanje eksona 53 tijekom spajanja RNA. Ovo rezultira proizvodnjom kraćeg, ali funkcionalnog distrofina, što pomaže u očuvanju mišićne funkcije (30). Klinička ispitivanja viltolarsena pokazala su značajno povećanje razine distrofina u mišićnom tkivu i poboljšanje funkcionalnih ishoda kod djece s DMD-om. Pacijenti su pokazali poboljšanje u testovima hodne sposobnosti i mišićne snage (31). Viltolarsen se primjenjuje intravenozno jednom tjedno. Doza se prilagođava tjelesnoj težini pacijenta, a kontinuirano liječenje je neophodno za održavanje razine distrofina i mišićne funkcije (31).

Elevidys je još jedna genska terapija za DMD koja koristi AAV vektore za isporuku genske terapije, omogućujući proizvodnju funkcionalnog distrofina. Ova terapija cilja specifične mutacije u DMD genu, pružajući prilagođeni pristup liječenju (32). Elevidys koristi AAV vektore za prijenos funkcionalnog gena za distrofina u mišićne stanice. Nakon jednokratne infuzije, vektor prenosi gen u ciljne stanice, omogućujući proizvodnju distrofina i poboljšanje mišićne funkcije (32). Klinička ispitivanja pokazala su da Elevidys može značajno povećati razine distrofina u mišićnom tkivu i poboljšati funkcionalne ishode. Pacijenti su pokazali stabilizaciju ili poboljšanje hodne sposobnosti i mišićne snage (32). Elevidys se primjenjuje jednokratnom intravenoznom infuzijom. Terapija zahtijeva praćenje kako bi se procijenila učinkovitost i sigurnost (32).

6.3. Hemofilija A

Hemofilija A je nasljedni poremećaj krvarenja uzrokovan nedostatkom ili disfunkcijom faktora VIII (FVIII), ključnog proteina za normalnu koagulaciju krvi. Ova bolest se nasljeđuje X-vezano, što znači da su uglavnom pogođeni dječaci, dok su djevojčice obično nositelji. Hemofilija A se manifestira u različitim stupnjevima ozbiljnosti, ovisno o razini FVIII aktivnosti u plazmi. Djeca s teškom hemofilijom A imaju manje od 1% normalne aktivnosti FVIII i sklona su spontanom krvarenjima, dok djeca s blažim oblicima bolesti imaju višu razinu FVIII i manje ozbiljne simptome (33). Klinička prezentacija hemofilije A uključuje produženo krvarenje nakon manjih trauma, spontana krvarenja u zglobove i mišiće te produženo krvarenje nakon kirurških zahvata. Ponovljena krvarenja u zglobove mogu dovesti do kroničnog artritisa i invalidnosti ako se ne liječe adekvatno. Dijagnoza hemofilije A postavlja se na temelju obiteljske anamneze, kliničkih simptoma i laboratorijskih testova koji uključuju mjerenje aktivnosti FVIII i genetsko testiranje (34). Liječenje hemofilije A uključuje nadomjesnu terapiju FVIII koncentratima, koja može biti profilaktička (preventivna) ili "*on-demand*" (po potrebi). Profilaktička terapija je posebno važna za djecu s teškom hemofilijom A jer značajno smanjuje rizik od krvarenja i povezanih komplikacija. U posljednje vrijeme, genska terapija i nove farmakološke opcije, kao što su emicizumab, pokazale su obećavajuće rezultate u liječenju hemofilije A, pružajući nadu za poboljšanje kvalitete života pacijenata (35).

Roctavian (valoctocogene roxaparvovec) je inovativna genska terapija razvijena za liječenje hemofilije A, rijetkog nasljednog poremećaja koagulacije uzrokovanog nedostatkom ili disfunkcijom faktora VIII (FVIII). Hemofilija A se manifestira kroz spontana krvarenja,

posebno u zglobove i mišiće, što može dovesti do kronične boli i invaliditeta. Standardni tretman za hemofiliju A uključuje redovite infuzije FVIII koncentrata, što može biti skupo i zahtjevno (36). Mehanizam djelovanja Roctaviana temelji se na isporuci funkcionalnog gena za FVIII pomoću adeno-asociranog virusnog (AAV) vektora. Nakon jednokratne intravenozne infuzije, vektor prenosi gen za FVIII u jetrene stanice pacijenta, koje potom počinju proizvoditi i lučiti funkcionalni FVIII u krvotok. Ova metoda omogućuje kontinuiranu endogenu proizvodnju FVIII, smanjujući ili eliminirajući potrebu za redovitim infuzijama FVIII koncentrata (37). Klinička ispitivanja pokazala su značajnu učinkovitost Roctaviana u povećanju razina FVIII i smanjenju učestalosti krvarenja. U fazi 3 ispitivanja, većina pacijenata postigla je održive razine FVIII koje su smanjile potrebu za profilaktičkom terapijom FVIII koncentratima. Osim toga, mnogi pacijenti su iskusili značajno poboljšanje kvalitete života, s manjim brojem epizoda krvarenja i smanjenom potrebom za hitnim medicinskim intervencijama (36). Sigurnosni profil Roctaviana pokazao je da je terapija uglavnom dobro podnošljiva. Najčešće nuspojave uključivale su blage do umjerene reakcije povezane s infuzijom, povećane razine jetrenih enzima i prolaznu trombocitopeniju. Važno je napomenuti da dugoročni učinci i sigurnost ove terapije zahtijevaju daljnje praćenje kako bi se potvrdila trajna učinkovitost i isključile moguće dugoročne nuspojave (37).

Roctavian (valoctocogene roxaparvovec) predstavlja značajan napredak u liječenju hemofilije A, pružajući mogućnost trajne genske terapije koja može smanjiti ili eliminirati potrebu za redovitim infuzijama FVIII. Klinička ispitivanja su pokazala visoku učinkovitost u povećanju razina FVIII i smanjenju epizoda krvarenja, čime se značajno poboljšava kvaliteta života pacijenata. Daljnja istraživanja su potrebna kako bi se potvrdila dugoročna sigurnost i učinkovitost ove terapije.

6.4. Srpasta anemija

Srpasta anemija je nasljedna hemoglobinopatija karakterizirana prisutnošću abnormalnog hemoglobina S (HbS), koji uzrokuje deformaciju eritrocita u oblik srpa pod uvjetima niske koncentracije kisika. Bolest je uzrokovana mutacijom u HBB genu koji kodira beta-lanac hemoglobina. Srpasti eritrociti su rigidni i skloni agregaciji, što dovodi do začepjenja malih krvnih žila i posljedičnih kriza boli, oštećenja organa i hemolitičke anemije (38). Kod djece, srpasta anemija se može manifestirati u ranom djetinjstvu s simptomima kao što su bolne krize (vazo-okluzivne krize), anemija, splenomegalija, česte infekcije i zastoj u

rastu i razvoju. Djeca s srpastom anemijom su podložna ozbiljnim komplikacijama poput akutnog torakalnog sindroma, moždanog udara i sepse (39). Dijagnoza srpaste anemije se postavlja putem hemoglobin elektroforeze ili genetskog testiranja koje potvrđuje prisutnost HbS-a. Liječenje uključuje hidrataciju, analgeziju, transfuzije krvi i profilaktičku primjenu antibiotika kako bi se smanjio rizik od infekcija. Hidroksiurea je lijek koji se često koristi za smanjenje učestalosti i težine vazo-okluzivnih kriza i povećanje razine fetalnog hemoglobina (HbF) koji inhibira polimerizaciju HbS-a (40). Nedavna istraživanja su usmjerena na razvoj novih terapija, uključujući gensku terapiju i upotrebu novih lijekova poput crizanlizumaba i voxelotor-a, koji ciljaju specifične patofiziološke mehanizme bolesti. Ovi napredci nude nadu za poboljšanje ishoda i kvalitete života djece oboljele od srpaste anemije (39).

Lyfgenia i Casgevy su inovativne genske terapije razvijene za liječenje srpaste anemije. Ova bolest je uzrokovana mutacijom u HBB genu, što rezultira proizvodnjom abnormalnog hemoglobina S (HbS). Obje terapije koriste napredne tehnologije genske modifikacije kako bi omogućile proizvodnju normalnog hemoglobina i smanjile broj srpastih eritrocita.

Lyfgenia koristi tehnologiju CRISPR-Cas9 za ispravljanje genetske mutacije ili unosi funkcionalnu kopiju HBB gena kako bi se omogućila proizvodnja normalnog hemoglobina (41). Lyfgenia djeluje tako da modificira hematopoetske matične stanice (HSC) pacijenta. Nakon prikupljanja HSC-a iz krvi pacijenta, stanice se genetski modificiraju u laboratoriju pomoću CRISPR-Cas9 tehnologije ili lentivirusnog vektora, a zatim se vraćaju pacijentu putem autologne transplantacije. Ove modificirane stanice proizvode normalne eritrocite s funkcionalnim hemoglobinom (41, 42). U kliničkim ispitivanjima, Lyfgenia je pokazala značajnu učinkovitost u smanjenju broja vazo-okluzivnih kriza i poboljšanju razine hemoglobina kod pacijenata sa srpastom anemijom. Pacijenti su pokazali trajnu proizvodnju normalnog hemoglobina i smanjenje simptoma bolesti (42).

Casgevy također koristi tehnologiju CRISPR-Cas9 za ispravljanje genetske mutacije ili unosi funkcionalnu kopiju HBB gena kako bi se omogućila proizvodnja normalnog hemoglobina (41). Casgevy djeluje slično kao Lyfgenia. Nakon prikupljanja HSC-a iz krvi pacijenta, stanice se genetski modificiraju pomoću CRISPR-Cas9 tehnologije ili lentivirusnog vektora i vraćaju pacijentu putem autologne transplantacije. Modificirane stanice migriraju u koštanu srž, gdje proizvode normalne eritrocite s funkcionalnim hemoglobinom, smanjujući broj srpastih eritrocita i sprječavajući komplikacije bolesti (41, 42). U kliničkim ispitivanjima, Casgevy je pokazao značajnu učinkovitost u smanjenju broja vazo-okluzivnih kriza i

poboljšanju razine hemoglobina kod pacijenata sa srpastom anemijom. Pacijenti su pokazali stabilizaciju kliničkog stanja i poboljšanje kvalitete života (42).

6.5. Beta talasemija

Beta talasemija je nasljedna krvna bolest karakterizirana smanjenom sintezom beta-lanaca hemoglobina, što dovodi do anemije različite težine. Uzrokovana je mutacijama u HBB genu, koje rezultiraju smanjenom ili potpuno odsutnom proizvodnjom beta-globinskih lanaca. Postoje tri glavna oblika beta talasemije: talasemija minor (blagi oblik), talasemija intermedia (srednje teški oblik) i talasemija major (teški oblik, poznat i kao Cooleyjeva anemija) (43). Djeca s beta talasemijom major obično pokazuju simptome u prvoj godini života, uključujući tešku anemiju, žuticu, slab rast i deformacije kostiju. Ova djeca zahtijevaju redovite transfuzije krvi kako bi održali adekvatnu razinu hemoglobina i spriječili komplikacije poput srčane insuficijencije i oštećenja organa zbog preopterećenja željezom (44). Dijagnoza beta talasemije temelji se na kliničkim simptomima, laboratorijskim testovima, uključujući kompletne krvne slike i hemoglobin elektroforezu, te genetskom testiranju koje potvrđuje prisutnost mutacija u HBB genu. Liječenje uključuje redovite transfuzije krvi, kelacijske terapije za uklanjanje viška željeza iz tijela, te potporne terapije za upravljanje simptomima i sprječavanje komplikacija. Transplantacija hematopoetskih matičnih stanica (HSCT) može biti kurativna terapija za neke pacijente, dok genska terapija predstavlja obećavajuću opciju koja je trenutno u fazi istraživanja (45).

Zynteglo (betibeglogene autotemcel) je genska terapija razvijena za liječenje beta talasemije, posebno za pacijente koji su ovisni o redovitim transfuzijama krvi. Ova terapija koristi lentivirusne vektore za prijenos funkcionalne kopije beta-globin gena u hematopoetske matične stanice pacijenta. Lentivirusni vektor unosi funkcionalni beta-globin gen u hematopoetske matične stanice koje se diferenciraju u crvene krvne stanice sposobne za proizvodnju normalnog hemoglobina. Na taj način se smanjuje neravnoteža između alfa i beta lanaca i sprječava hemoliza. Funkcionalni beta-globin gen omogućuje proizvodnju normalnog hemoglobina A (HbA), čime se smanjuje potreba za transfuzijama krvi (46). Klinička ispitivanja Zyntegla pokazala su značajna poboljšanja u razinama hemoglobina i smanjenje potrebe za transfuzijama krvi kod pacijenata s beta talasemijom. U jednom od glavnih kliničkih ispitivanja, većina pacijenata koji su primili Zynteglo postigli su transfuzijsku nezavisnost, s razinama hemoglobina održanim iznad 9 g/dL bez potrebe za dodatnim transfuzijama (46).

Studija Northstar-2 bila je jedna od ključnih kliničkih ispitivanja koja su ocijenila učinkovitost i sigurnost Zyntegla. Rezultati su pokazali da je 89% pacijenata postiglo transfuzijsku nezavisnost nakon liječenja, s prosječnim razinama hemoglobina iznad 10 g/dL. Nuspojave su bile u skladu s očekivanjima za liječenje temeljenom na transplantaciji matičnih stanica, uključujući neutropeniju, trombocitopeniju i infekcije, ali su bile podnošljive (46). Zynteglo se primjenjuje putem autologne transplantacije hematopoetskih matičnih stanica. Postupak započinje sakupljanjem pacijentovih vlastitih matičnih stanica iz krvi, koje se zatim obrađuju u laboratoriju gdje se u njih unosi funkcionalni beta-globin gen pomoću lentivirusnog vektora. Nakon što se modificirane stanice obrade, one se vraćaju pacijentu putem infuzije. Prije infuzije, pacijent prolazi kroz kondicioniranje kemoterapijom kako bi se smanjio broj postojećih hematopoetskih stanica i omogućilo novo usađivanje modificiranih stanica (46). Dugoročni učinci genske terapije Zynteglo pokazali su održivu proizvodnju hemoglobina i trajnu transfuzijsku nezavisnost kod većine pacijenata. Sigurnost terapije pažljivo je praćena kroz klinička ispitivanja i dugoročno praćenje, koje je pokazalo da su nuspojave bile podnošljive i očekivane za ovakav oblik terapije (46).

Zynteglo (betibeglogene autotemcel) predstavlja značajan napredak u liječenju beta talasemije, posebno za pacijente koji su ovisni o transfuzijama krvi. Korištenje lentivirusnih vektora za prijenos funkcionalnog beta-globin gena omogućuje trajnu proizvodnju normalnog hemoglobina i smanjuje potrebu za transfuzijama, čime se poboljšava kvaliteta života pacijenata. Klinička ispitivanja su pokazala visoku učinkovitost i sigurnost Zyntegla, što ga čini važnom opcijom u terapijskom arsenalu za beta talasemiju.

6.6. ADA-SCID

Adenozin deaminaza (ADA) - teška kombinirana imunodeficijencija (ADA-SCID) je rijetka, nasljedna bolest koja se karakterizira teškim oštećenjem imunološkog sustava. Uzrokovana je mutacijama u ADA genu, što dovodi do nedostatka enzima adenozin deaminaze. Ovaj enzim je ključan za razgradnju toksičnih purinskih metabolita. Njihovo nakupljanje uzrokuje toksične učinke na limfocite, što rezultira teškom imunodeficijencijom (47). Djeca s ADA-SCID-om obično pokazuju simptome ubrzo nakon rođenja, uključujući česte i teške infekcije, slab rast, kroničnu dijareju i osip. Bez liječenja, bolest je smrtonosna u ranoj dobi zbog nemogućnosti tijela da se bori protiv infekcija (47). Dijagnoza ADA-SCID-a uključuje mjerenje razine ADA enzima i toksičnih metabolita u krvi, te genetsko testiranje za

identifikaciju mutacija u ADA genu. Liječenje uključuje transplantaciju hematopoetskih matičnih stanica (HSCT) od kompatibilnog donora, enzimsku nadomjesnu terapiju (ERT) i gensku terapiju. ERT koristi rekombinantni ADA enzim za smanjenje toksičnih metabolita, dok genska terapija koristi retrovirusne vektore za prijenos funkcionalnog ADA gena u pacijentove vlastite matične stanice (47, 48).

Strimvelis (Autologous CD34+ Cells Transduced to Express ADA) je genska terapija razvijena za liječenje teške kombinirane imunodeficijencije uzrokovane deficitom adenozin deaminaze (ADA-SCID), rijetke nasljedne bolesti imunološkog sustava. ADA-SCID je uzrokovan mutacijama u genu ADA, koji kodira enzim adenozin deaminazu. Nedostatak ovog enzima dovodi do nakupljanja toksičnih metabolita u limfocitima, što uzrokuje teški poremećaj imunološkog sustava i povećanu podložnost infekcijama (48). Strimvelis koristi retrovirusne vektore za prijenos funkcionalne kopije ADA gena u autologne hematopoetske matične stanice pacijenta. Nakon prikupljanja matičnih stanica iz pacijentove krvi ili koštane srži, stanice se u laboratoriju genetski modificiraju kako bi uključile funkcionalni ADA gen. Modificirane stanice se potom vraćaju pacijentu putem autologne transplantacije. Ove genetski modificirane stanice migriraju u različite dijelove tijela, gdje počinju proizvoditi adenozin deaminazu, omogućujući pravilnu detoksifikaciju metabolita i obnovu imunološke funkcije (48). U kliničkim ispitivanjima, Strimvelis je pokazao značajnu učinkovitost u obnovi imunološke funkcije kod pacijenata s ADA-SCID-om. Pacijenti koji su primili Strimvelis pokazali su poboljšanje broja i funkcije limfocita, uz smanjenje učestalosti i težine infekcija. Dugoročni rezultati su pokazali trajnu ekspresiju ADA gena i stabilnu imunološku funkciju kod većine pacijenata (48, 49). Strimvelis se primjenjuje putem autologne transplantacije hematopoetskih matičnih stanica. Postupak započinje sakupljanjem pacijentovih vlastitih matičnih stanica iz krvi ili koštane srži, koje se zatim obrađuju u laboratoriju gdje se u njih unosi funkcionalni ADA gen pomoću retrovirusnog vektora. Nakon što se modificirane stanice obrade, one se vraćaju pacijentu putem infuzije. Prije infuzije, pacijent prolazi kroz blago kondicioniranje kemoterapijom kako bi se omogućilo usađivanje novih stanica (48). Dugoročni učinci Strimvelisa pokazali su održivu proizvodnju adenozin deaminaze i stabilnu imunološku funkciju kod većine pacijenata. Sigurnosni profil Strimvelisa pokazao je da je terapija dobro podnošljiva, s najčešćim nuspojavama uključujući reakcije na mjestu injekcije, privremenu neutropeniju i trombocitopeniju. Ozbiljne nuspojave su rijetke, ali mogu uključivati rizike povezane s transplantacijom matičnih stanica i retrovirusnim vektorom, što zahtijeva pažljivo praćenje pacijenata (49).

Strimvelis predstavlja značajan napredak u liječenju teške kombinirane imunodeficijencije uzrokovane deficitom adenozin deaminaze (ADA-SCID) korištenjem tehnologije genske terapije, Strimvelis omogućuje proizvodnju funkcionalne adenozin deaminaze, što dovodi do obnove imunološke funkcije i smanjenja učestalosti infekcija. Klinička ispitivanja su pokazala visoku učinkovitost i dobar sigurnosni profil Strimvelisa, čime se značajno unapređuje terapijski pristup ovoj rijetkoj i teškoj bolesti.

6.7. Hematološki maligniteti

Hematološki maligniteti, odnosno maligni tumori krvi i krvotvornih tkiva, predstavljaju značajan zdravstveni problem u pedijatrijskoj populaciji. Najčešći oblici uključuju leukemije, limfome i mijelodisplastične sindrome. Akutna limfoblastična leukemija (ALL) je najčešći tip raka kod djece, čineći oko 25% svih maligniteta u dječjoj dobi. Akutna mijeloična leukemija (AML) je rjeđa, ali agresivnija vrsta leukemije (50). Klinička prezentacija hematoloških maligniteta može varirati, ali često uključuje simptome poput anemije, trombocitopenije, neutropenije, povećanih limfnih čvorova, slezene ili jetre, te nespecifične simptome kao što su umor, groznica i gubitak težine (51). Dijagnoza hematoloških maligniteta temelji se na kombinaciji kliničkih znakova, laboratorijskih testova i histopatoloških analiza. Krvna slika, citogenetička i molekularna testiranja ključna su za identifikaciju specifičnih genetskih abnormalnosti i određivanje podtipa bolesti. Liječenje uključuje kemoterapiju, radijacijsku terapiju, imunoterapiju i transplantaciju hematopoetskih matičnih stanica, ovisno o vrsti i stadiju bolesti (50). Napredak u molekularnoj biologiji i genskoj terapiji donosi nove mogućnosti u liječenju hematoloških maligniteta kod djece. Personalizirana medicina, usmjerena na specifične genetske promjene, pokazuje obećavajuće rezultate u poboljšanju ishoda i smanjenju nuspojava liječenja (51).

Kymriah (tisagenlecleucel) je prva odobrena CAR-T (*Chimeric Antigen Receptor T-cell*) terapija razvijena za liječenje B-stanične akutne limfoblastične leukemije (B-ALL) kod djece i mladih odraslih osoba te difuznog velikog B-staničnog limfoma (DLBCL) kod odraslih. Ova inovativna terapija koristi pacijentove vlastite T-stanice, koje su genetski modificirane kako bi ciljale i uništavale stanice raka (52). Kymriah koristi tehnologiju genske modifikacije kako bi se pacijentove T-stanice pretvorile u CAR-T stanice. Proces započinje prikupljanjem pacijentovih T-stanica putem leukaferoze. U laboratoriju se T-stanice genetski modificiraju pomoću lentivirusnog vektora kako bi izrazile kimerni antigenski receptor (CAR) koji

prepoznaje CD19, protein koji se nalazi na površini B-stanica leukemije i limfoma. Modificirane CAR-T stanice potom se vraćaju pacijentu putem infuzije. Kada CAR-T stanice dođu u kontakt s CD19+ stanicama, aktiviraju se i uništavaju maligne stanice (53). U kliničkim ispitivanjima, Kymriah je pokazao značajnu učinkovitost u liječenju B-ALL-a i DLBCL-a. U kliničkom ispitivanju faze 2 za B-ALL, poznatom kao ELIANA studija, ukupna stopa odgovora bila je 81%, s kompletnom remisijom postignutom kod mnogih pacijenata koji su bili rezistentni na druge oblike terapije (52). U kliničkom ispitivanju za DLBCL, poznatom kao JULIET studija, 52% pacijenata postiglo je odgovor na terapiju, a 40% je postiglo kompletnu remisiju (54). Kymriah se primjenjuje u specijaliziranim centrima za liječenje. Proces započinje leukaferozom, tijekom koje se prikupljaju pacijentove T-stanice. Ove stanice se zatim šalju u laboratorij gdje se genetski modificiraju kako bi izrazile CAR. Nakon modifikacije, CAR-T stanice se vraćaju pacijentu putem infuzije. Prije infuzije, pacijent prolazi kroz blago kondicioniranje kemoterapijom kako bi se smanjio broj postojećih T-stanica i omogućilo novo usađivanje modificiranih stanica (53). Dugoročni učinci Kymriaha pokazali su održive odgovore i trajnu remisiju kod mnogih pacijenata. Sigurnosni profil Kymriaha pokazao je da je terapija povezana s određenim nuspojavama, od kojih su najčešće sindrom oslobađanja citokina (CRS) i neurotoksičnost. CRS se javlja zbog masovnog oslobađanja citokina iz aktiviranih CAR-T stanica i može uzrokovati simptome poput groznice, hipotenzije i hipoksije. Neurotoksičnost može uključivati simptome poput glavobolje, encefalopatije i napadaja. Ove nuspojave se mogu liječiti u specijaliziranim centrima (52,54).

Kymriah (tisagenlecleucel) predstavlja značajan napredak u liječenju B-stanične akutne limfoblastične leukemije i difuznog velikog B-staničnog limfoma. Korištenjem tehnologije CAR-T stanica, Kymriah omogućuje ciljano uništavanje malignih B-stanica, što dovodi do visokih stopa remisije kod pacijenata koji su rezistentni na druge oblike terapije. Klinička ispitivanja su pokazala visoku učinkovitost i dobar sigurnosni profil Kymriaha, čime se značajno unapređuje terapijski pristup ovim teškim bolestima.

6.8. Cerebralna adrenoleukodistrofija

Cerebralna adrenoleukodistrofija (CALD) je rijetka, nasljedna bolest karakterizirana progresivnim oštećenjem mijelina u živčanom sustavu, te disfunkcijom nadbubrežnih žlijezda. Uzrokovana je mutacijama u genu ABCD1, koji kodira protein važan za transport vrlo dugolančanih masnih kiselina (VLCFA) u peroksisome radi njihove razgradnje. Nakupljanje

VLCFA dovodi do toksičnih učinaka na mijelin i adrenalne stanice (55). Klinička prezentacija cerebralne adrenoleukodistrofije kod djece obično počinje između 4. i 10. godine života. Rani simptomi uključuju poteškoće s pažnjom, hiperaktivnost, te poteškoće u učenju. Kako bolest napreduje, djeca razvijaju neurološke simptome poput gubitka vida i sluha, motoričkih poteškoća, te napadaja. Bez liječenja, bolest brzo napreduje do potpune nesposobnosti i smrti u roku od nekoliko godina od pojave prvih simptoma (56). Dijagnoza cerebralne adrenoleukodistrofije uključuje mjerenje razine VLCFA u krvi, magnetsku rezonanciju (MRI) mozga koja pokazuje karakteristične lezije, te genetsko testiranje za potvrdu mutacija u ABCD1 genu (55). Liječenje cerebralne adrenoleukodistrofije uključuje nadomjesnu terapiju steroidima za adrenalnu insuficijenciju te transplantaciju hematopoetskih matičnih stanica (HSCT) koja može zaustaviti progresiju neuroloških simptoma ako se provede u ranim fazama bolesti (56). Nedavno su razvijene genske terapije koje pružaju nadu za dugoročno liječenje cerebralne adrenoleukodistrofije.

Skysona (elivaldogene autotemcel) je genska terapija razvijena za liječenje cerebralne adrenoleukodistrofije. Skysona koristi lentivirusne vektore za prijenos funkcionalne kopije ABCD1 gena u hematopoetske matične stanice pacijenta. Nakon prikupljanja matičnih stanica iz pacijentove krvi, stanice se u laboratoriju genetski modificiraju kako bi uključile funkcionalni ABCD1 gen. Modificirane stanice se potom vraćaju pacijentu putem autologne transplantacije. Ove genetski modificirane stanice migriraju u mozak i druge dijelove tijela, gdje počinju proizvoditi ALDP, omogućujući pravilnu razgradnju VLCFA i sprječavanje daljnje demijelinizacije (57,58). U kliničkim ispitivanjima, uključujući fazu 2/3 ispitivanja, Skysona je pokazala značajnu učinkovitost u usporavanju ili zaustavljanju progresije cerebralne adrenoleukodistrofije. Pacijenti koji su primili Skysonu pokazali su stabilizaciju ili poboljšanje neuroloških funkcija, u usporedbi s brzim napredovanjem bolesti kod neliječenih pacijenata. Studije su pokazale da su pacijenti zadržali kognitivne i motoričke funkcije, uz smanjenu akumulaciju VLCFA u mozgu (58). Skysona se primjenjuje putem autologne transplantacije hematopoetskih matičnih stanica. Postupak započinje sakupljanjem pacijentovih vlastitih matičnih stanica iz krvi, koje se zatim obrađuju u laboratoriju gdje se u njih unosi funkcionalni ABCD1 gen pomoću lentivirusnog vektora. Nakon što se modificirane stanice obrade, one se vraćaju pacijentu putem infuzije. Prije infuzije, pacijent prolazi kroz kondicioniranje kemoterapijom kako bi se smanjio broj postojećih hematopoetskih stanica i omogućilo novo usađivanje modificiranih stanica (57). Dugoročni učinci Skysona pokazali su održivu proizvodnju ALDP i značajno usporavanje progresije cerebralne adrenoleukodistrofije kod

većine pacijenata. Sigurnosni profil Skysona pokazao je da je lijek dobro podnošljiv, s najčešćim nuspojavama uključujući reakcije na mjestu injekcije, privremenu neutropeniju i trombocitopeniju. Ozbiljne nuspojave su rijetke, ali mogu uključivati rizike povezane s transplantacijom matičnih stanica i kemoterapijom, što zahtijeva pažljivo praćenje pacijenata (57).

Libmeldy (atidarsagene autotemcel) je genska terapija razvijena za liječenje metakromatske leukodistrofije (MLD), rijetke nasljedne neurodegenerativne bolesti uzrokovane mutacijama u genu ARSA. Ovaj gen kodira enzim arilsulfatazu A, koji je ključan za razgradnju sulfatida u stanicama. Nedostatak arilsulfataze A dovodi do nakupljanja sulfatida, što uzrokuje demijelinizaciju živčanih vlakana, progresivno oštećenje živčanog sustava i ozbiljne neurološke simptome (59). Libmeldy koristi lentivirusne vektore za prijenos funkcionalne kopije ARSA gena u hematopoetske matične stanice pacijenta. Nakon prikupljanja matičnih stanica iz pacijentove krvi, stanice se u laboratoriju genetski modificiraju kako bi uključile funkcionalni ARSA gen. Modificirane stanice se potom vraćaju pacijentu putem autologne transplantacije. Ove genetski modificirane stanice migriraju u mozak i druge dijelove tijela, gdje počinju proizvoditi arilsulfatazu A, omogućujući pravilnu razgradnju sulfatida i sprječavanje daljnje demijelinizacije (59, 60). U kliničkim ispitivanjima, uključujući fazu 1/2 ispitivanja, Libmeldy je pokazao značajnu učinkovitost u usporavanju ili zaustavljanju progresije metakromatske leukodistrofije. Pacijenti koji su primili Libmeldy pokazali su stabilizaciju ili poboljšanje neuroloških funkcija, u usporedbi s brzim napredovanjem bolesti kod neliječenih pacijenata. Studije su pokazale da su pacijenti zadržali kognitivne i motoričke funkcije, uz smanjenu akumulaciju sulfatida u mozgu (60).

Libmeldy se primjenjuje putem autologne transplantacije hematopoetskih matičnih stanica. Postupak započinje sakupljanjem pacijentovih vlastitih matičnih stanica iz krvi, koje se zatim obrađuju u laboratoriju gdje se u njih unosi funkcionalni ARSA gen pomoću lentivirusnog vektora. Nakon što se modificirane stanice obrade, one se vraćaju pacijentu putem infuzije. Prije infuzije, pacijent prolazi kroz kondicioniranje kemoterapijom kako bi se smanjio broj postojećih hematopoetskih stanica i omogućilo novo usađivanje modificiranih stanica (59). Dugoročni učinci Libmeldyja pokazali su održivu proizvodnju arilsulfataze A i značajno usporavanje progresije MLD kod većine pacijenata. Sigurnosni profil Libmeldyja pokazao je da je lijek dobro podnošljiv, s najčešćim nuspojavama uključujući reakcije na mjestu injekcije, privremenu neutropeniju i trombocitopeniju. Ozbiljne nuspojave su rijetke, ali mogu uključivati

rizike povezane s transplantacijom matičnih stanica i kemoterapijom, što zahtijeva pažljivo praćenje pacijenata (60).

Skysona (elivaldogene autotemcel) i Libmeldy (atidarsagene autotemcel) predstavljaju značajan napredak u liječenju cerebralne adrenoleukodistrofije i metakromatske leukodistrofije. Korištenjem tehnologije genske terapije, Skysona omogućuje proizvodnju funkcionalnog ALDP-a, dok Libmeldy omogućuje proizvodnju funkcionalnog enzima arilsulfataze A. Obje terapije dovode do smanjenja akumulacije toksičnih tvari i usporavanja progresije neurodegenerativnih simptoma. Klinička ispitivanja su pokazala visoku učinkovitost i dobar sigurnosni profil ovih terapija, čime se značajno unapređuje terapijski pristup ovim rijetkim i teškim bolestima.

6.9. Retinalna distrofija

Retinalna distrofija je skupina nasljednih bolesti mrežnice koje uzrokuju progresivan gubitak vida kod djece. Ove bolesti karakterizira degeneracija fotoreceptora ili drugih dijelova mrežnice, što dovodi do simptoma poput noćnog sljepila, suženja vidnog polja i, u konačnici, potpune sljepoće. Najčešći oblici retinalne distrofije uključuju retinitis pigmentosus (RP), Leberovu kongenitalnu amaurozu (LCA) i Stargardtovu bolest (61). Retinitis pigmentosa je uzrokovana mutacijama u različitim genima koji su ključni za funkciju i održavanje fotoreceptora. Leberova kongenitalna amauroza je teži oblik retinalne distrofije koja se obično manifestira u ranom djetinjstvu, a također je povezana s mutacijama u više gena, uključujući RPE65 i CEP290 (62). Stargardtova bolest, najčešći oblik juvenilne makularne distrofije, uzrokovana je mutacijama u ABCA4 genu, što dovodi do nakupljanja toksičnih lipofuscinskih tvari u mrežnici (63). Dijagnoza retinalnih distrofija uključuje klinički pregled, elektrofiziološke testove poput elektroretinograma (ERG) i genetsko testiranje za identifikaciju specifičnih mutacija. Liječenje je trenutno ograničeno na simptomatsku i suportivnu skrb, uključujući korištenje pomagala za slabovidne osobe i zaštitu od jakog svjetla (61). Razvoj genskih terapija, poput voretigena neparvoveč-rzyl (Luxturna) za LCA uzrokovanu mutacijama u RPE65 genu, pruža novu nadu za pacijente s ovim teškim bolestima (64).

Luxturna (voretigene neparvoveč-rzyl) je genska terapija razvijena za liječenje nasljedne retinalne distrofije uzrokovane mutacijama u genu RPE65. Ovaj gen kodira enzim bitan za regeneraciju vidnih pigmenata, a mutacije u RPE65 dovode do nakupljanja toksičnih spojeva i progresivnog gubitka vida. Luxturna je prva odobrena genska terapija za nasljedne

bolesti oka i predstavlja značajan napredak u oftalmologiji (64). Luxturna koristi adenoasocirani virus (AAV) kao vektor za prijenos funkcionalne kopije RPE65 gena u stanice mrežnice. Nakon subretinalne injekcije Luxturna, vektor dostavlja funkcionalni RPE65 gen u retinalne pigmentne epitelne stanice, omogućujući im proizvodnju normalnog enzima. Ovo rezultira regeneracijom vidnih pigmenata, smanjenjem toksičnih spojeva i poboljšanjem vidne funkcije (64). U kliničkim ispitivanjima, uključujući pivotalnu fazu 3 ispitivanja, Luxturna je pokazala značajnu učinkovitost u poboljšanju vida kod pacijenata s nasljednom retinalnom distrofijom uzrokovanom mutacijama u RPE65. U ovoj studiji, pacijenti koji su primili Luxturnu pokazali su značajno poboljšanje u orijentaciji i mobilnosti, kao i povećanje osjetljivosti na svjetlost i vidnog polja. Poboljšanja su bila dugotrajna, a nuspojave su bile podnošljive (64). Luxturna se primjenjuje putem subretinalne injekcije, koja se provodi u kirurškim uvjetima pod anestezijom. Postupak uključuje ubrizgavanje male količine Luxturne vektora ispod mrežnice kako bi se dostavio funkcionalni RPE65 gen. Terapija se primjenjuje jednokratno za svako oko, a pacijenti se obično oporavljaju unutar nekoliko tjedana nakon zahvata (64). Dugoročni učinci Luxturne pokazali su održivo poboljšanje vida kod pacijenata, što značajno poboljšava njihovu kvalitetu života. Sigurnosni profil Luxturne pokazao je da je lijek dobro podnošljiv, s najčešćim nuspojavama uključujući reakcije na mjestu injekcije, privremeni porast očnog tlaka i upalu oka. Ozbiljne nuspojave su rijetke, ali mogu uključivati retinalnu rupturu ili odvajanje mrežnice, što zahtijeva pažljivo praćenje pacijenata (64).

Luxturna (voretigene neparvovec-rzyl) predstavlja značajan napredak u liječenju nasljedne retinalne distrofije uzrokovane mutacijama u RPE65 genu. Korištenjem tehnologije genske terapije, Luxturna omogućuje obnovu vidnih pigmenata i poboljšanje vidne funkcije kod pacijenata. Klinička ispitivanja su pokazala visoku učinkovitost i dobar sigurnosni profil Luxturne, čime se značajno unapređuje terapijski pristup ovoj rijetkoj i teškoj bolesti.

6.10. Akutna hepatička porfirija

Akutna hepatička porfirija (AHP) je skupina rijetkih genetskih poremećaja uzrokovanih defektima u enzimima biosintetskog puta hema, što dovodi do nakupljanja prekursora poput aminolevulininske kiseline (ALA) i porfobilinogena (PBG). Najčešći oblici akutne hepatičke porfirije uključuju akutnu intermitentnu porfiriju (AIP), porfiriju *variegata* (VP), i hereditarnu koproporfiriju (HCP). AHP se najčešće manifestira u adolescenciji ili ranoj odrasloj dobi, ali može se pojaviti i kod djece (65). Klinička prezentacija akutne hepatičke porfirije kod djece

uključuje akutne napade abdominalne boli, povraćanje, zatvor, neurološke simptome poput mišićne slabosti, senzorne neuropatije i mentalnih promjena. Ovi napadi mogu biti izazvani različitim čimbenicima poput lijekova, hormonskih promjena, prehrane i stresa. Zbog nespecifičnih simptoma, dijagnoza akutne hepatičke porfirije kod djece često je odgođena (65, 66). Dijagnoza akutne hepatičke porfirije temelji se na kliničkoj sumnji i potvrđuje se mjerenjem razina aminolevulinske kiseline i porfobilinogena u urinu tijekom akutnog napada. Genetsko testiranje može identificirati specifične mutacije u genima uključenim u biosintezu hema (65). Liječenje akutne hepatičke porfirije kod djece uključuje prekidanje napada primjenom arginata hema, koji smanjuje proizvodnju aminolevulinske kiseline i porfobilinogena, te simptomatsku terapiju za ublažavanje boli i drugih simptoma. Prevencija napada uključuje izbjegavanje poznatih okidača i redovite kontrole kod specijalista. Nedavni razvoj genskih terapija i novih farmakoloških agenasa pruža nadu za bolje dugoročno upravljanje AHP-om (66).

Givlaari (givosiran) je inovativni lijek razvijen za liječenje akutne intermitentne porfirije (AIP), rijetke nasljedne metaboličke bolesti koja uzrokuje poremećaj u proizvodnji hema, esencijalne komponente hemoglobina. Givosiran je siRNA (*small interfering RNA*) terapija koja cilja specifični enzim u jetri kako bi smanjila akumulaciju toksičnih metabolita i ublažila simptome bolesti (67). Givosiran djeluje kroz mehanizam RNA interferencije (RNAi), proces kojim siRNA molekule specifično smanjuju ekspresiju gena. Konkretno, givosiran cilja mRNA koja kodira aminolevulinat sintazu 1 (ALAS1), ključan enzim u biosintezi hema. Smanjenjem razine ALAS1, givosiran učinkovito smanjuje sintezu aminolevulinske kiseline (ALA) i porfobilinogena (PBG), toksičnih prekursora koji se akumuliraju u bolesnika s akutnom intermitentnom porfirijom i uzrokuju akutne napade (67,68). U kliničkim ispitivanjima, uključujući fazu 3 ENVISION studije, givosiran je pokazao značajnu učinkovitost u smanjenju učestalosti napada kod pacijenata s AIP-om. U ovoj studiji, pacijenti koji su primali givosiran imali su prosječno smanjenje učestalosti napada za 74% u usporedbi s placebo. Također, givosiran je značajno smanjio razine aminolevulinske kiseline i porfobilinogena u urinu, ključnih biomarkera bolesti (67). Givosiran se primjenjuje putem mjesečnih subkutanih injekcija. Preporučena doza je 2,5 mg/kg tjelesne težine jednom mjesečno. Ovaj režim omogućuje kontinuirano smanjenje sinteze toksičnih metabolita i prevenciju akutnih napada (67). Dugoročni učinci givosirana pokazuju održivu redukciju napada i poboljšanje kvalitete života kod pacijenata s AIP-om. Sigurnosni profil givosirana pokazao je da je lijek dobro podnošljiv, s najčešćim nuspojavama uključujući reakcije na mjestu

injekcije, mučninu i povišene razine jetrenih enzima. Ozbiljne nuspojave su rijetke, ali mogu uključivati povišene razine homocisteina, što zahtijeva redovito praćenje (67,68).

Givlaari (givosiran) predstavlja značajan napredak u liječenju akutne intermitentne porfirije. Korištenjem tehnologije RNA interferencije, givosiran učinkovito smanjuje sintezu toksičnih metabolita, što dovodi do smanjenja učestalosti napada i poboljšanja kvalitete života pacijenata s AIP-om. Klinička ispitivanja su pokazala visoku učinkovitost i dobar sigurnosni profil givosirana, čime se značajno unapređuje terapijski pristup ovoj rijetkoj i teškoj bolesti.

6.11. Primarna hiperoksalurija

Primarna hiperoksalurija je rijetka nasljedna metabolička bolest koja je karakterizirana prekomjernom proizvodnjom oksalata u jetri, što dovodi do nakupljanja oksalata u tijelu i stvaranja kalcijevih oksalatnih kristala u bubrezima i drugim organima. Bolest se nasljeđuje autosomno recesivno i uzrokovana je mutacijama u genima koji kodiraju enzime odgovorne za metabolizam glikoksilata (69). Postoje tri tipa primarne hiperoksalurije, od kojih su najčešći tip 1 (PH1), uzrokovan mutacijama u genu AGXT koji kodira alanin aminotransferazu, tip 2 (PH2) uzrokovan mutacijama u genu GRHPR, i tip 3 (PH3) uzrokovan mutacijama u genu HOGA1 (70). Klinička prezentacija primarne hiperoksalurije varira od blage do teške i često uključuje rekurentne bubrežne kamence, nefrokalcinozu, kroničnu bubrežnu bolest, te u najtežim slučajevima, sistemsku oksalozu koja može zahvatiti srce, kosti i kožu (70). Dijagnoza se temelji na mjerenju oksalata u urinu, genetskom testiranju, te biokemijskim testovima za identifikaciju specifičnih enzimskih deficijencija (69). Liječenje primarne hiperoksalurije uključuje povećani unos tekućine, primjenu inhibitora kristalizacije poput citrata, te dijetalne mjere za smanjenje unosa oksalata i proteina. U teškim slučajevima, gdje postoji progresivna bubrežna insuficijencija, potrebna je transplantacija bubrega ili jetre, ili kombinacija obje transplantacije (69). Razvoj genske terapije i novih farmakoloških agenasa koji ciljaju specifične metaboličke putove pruža novu nadu za pacijente s ovom teškom bolešću (70).

Oxlumo (lumasiran) je inovativni lijek razvijen za liječenje primarne hiperoksalurije tip 1 (PH1), rijetke nasljedne metaboličke bolesti koja uzrokuje prekomjernu proizvodnju oksalata u jetri. Lumasiran je siRNA (*small interfering RNA*) terapija koja cilja specifični enzim u jetri kako bi smanjila proizvodnju oksalata i time ublažila simptome bolesti (71). Lumasiran djeluje kroz mehanizam RNA interferencije (RNAi), proces kojim siRNA molekule specifično smanjuju ekspresiju gena. Konkretno, lumasiran cilja mRNA koja kodira enzim gliceratna

dehidrogenaza (HAO1), ključan za proizvodnju oksalata u jetri. Smanjenjem razine HAO1 enzima, lumasiran učinkovito smanjuje sintezu oksalata, čime se smanjuje njegova koncentracija u urinu i plazmi te se prevenira stvaranje kalcijevih oksalatnih kristala u bubrezima i drugim organima (71, 72). U kliničkim ispitivanjima, uključujući fazu 3 ILLUMINATE studije, lumasiran je pokazao značajnu učinkovitost u smanjenju koncentracije oksalata u urinu kod pacijenata s PH1. U ovoj studiji, pacijenti koji su primali lumasiran imali su prosječno smanjenje oksalata u urinu od 65% u usporedbi s placebo. Također, 84% pacijenata koji su primali lumasiran postiglo je normalizirane ili gotovo normalizirane razine oksalata u urinu (71). Lumasiran se primjenjuje putem subkutanih injekcija. Preporučena doza varira ovisno o tjelesnoj težini pacijenta, a terapija se obično započinje inicijalnim doziranjem u prva tri mjeseca, nakon čega slijedi održavanje svaka tri mjeseca. Ovaj režim omogućuje kontinuirano smanjenje proizvodnje oksalata i održavanje niskih razina oksalata u tijelu (71). Dugoročni učinci lumasirana pokazuju održivu redukciju oksalata u urinu i plazmi, što može smanjiti rizik od komplikacija povezanih s primarnom hiperoksalurijom tip 1, uključujući bubrežne kamence, nefrokalcinozu i kroničnu bubrežnu bolest. Sigurnosni profil lumasirana pokazao je da je lijek dobro podnošljiv, s najčešćim nuspojavama uključujući reakcije na mjestu injekcije, poput boli, eritema i otoka (71).

Oxlumo (lumasiran) predstavlja značajan napredak u liječenju primarne hiperoksalurije tip 1. Korištenjem tehnologije RNA interferencije, lumasiran učinkovito smanjuje proizvodnju oksalata u jetri, što dovodi do smanjenja razine oksalata u tijelu i prevencije komplikacija povezanih s ovom teškom bolešću. Klinička ispitivanja su pokazala visoku učinkovitost i dobar sigurnosni profil lumasirana, čime se poboljšava kvaliteta života pacijenata s primarnom hiperoksalurijom tip 1.

6.12. Bulozna epidermoliza

Bulozna epidermoliza (BE) je rijetka nasljedna bolest koja se karakterizira ekstremnom osjetljivošću kože na mehaničke ozljede, što rezultira stvaranjem mjehura i rana na koži. Bolest se nasljeđuje autosomno dominantno ili recesivno i može biti uzrokovana mutacijama u različitim genima koji kodiraju proteine ključne za strukturu i funkciju dermoepidermalnog spoja, poput kolagena VII (COL7A1) i keratina (73). Kliničke manifestacije bulozne epidermolize variraju ovisno o tipu bolesti. Najteži oblik, distrofična bulozna epidermoliza (DEB), može uzrokovati ozbiljne komplikacije poput ožiljaka, fuzije prstiju, te povećanog

rizika od raka kože. Djeca s buloznom epidermolizom često se suočavaju s kroničnom boli, infekcijama rana, te poteškoćama u hranjenju i rastu zbog oralnih lezija (73, 74). Dijagnoza bulozne epidermolize temelji se na kliničkom pregledu, histopatološkoj analizi biopsije kože, te genetskom testiranju koje može potvrditi specifične mutacije odgovorne za bolest (73). Liječenje je usmjereno na upravljanje simptomima i sprječavanje komplikacija, a uključuje pažljivo zbrinjavanje rana, upotrebu specijaliziranih obloga i odjeće, te multidisciplinarnu skrb koja obuhvaća dermatologe, nutricioniste i fizioterapeute (74). Nedavno su napredovali istraživački napor u razvoju genskih terapija i regenerativne medicine za buloznu epidermolizu, uključujući klinička ispitivanja genske terapije koja cilja na ispravljanje mutacija u COL7A1 genu, čime se pruža nada za buduće liječenje ove teške bolesti (75).

Vyjuvek (beremagene geperpavec-svdt) je genska terapija razvijena za liječenje distrofične bulozne epidermolize (DEB), rijetke nasljedne bolesti kože. DEB je uzrokovana mutacijama u genu COL7A1, koji kodira protein kolagen VII, ključan za stabilnost dermoepidermalnog spoja kože. Nedostatak ili disfunkcija kolagena VII dovodi do krhkosti kože, stvaranja mjehura i rana te povećanog rizika od infekcija i raka kože (75). Vyjuvek koristi neinfektivni *herpes simplex virus* (HSV-1) kao vektor za prijenos funkcionalne kopije COL7A1 gena u stanice kože pacijenta. Nakon topikalne primjene Vyjuveka, vektor dostavlja funkcionalni COL7A1 gen u jezgre epidermalnih stanica, omogućujući im proizvodnju kolagena VII. Ovo rezultira poboljšanjem stabilnosti kože i smanjenjem stvaranja mjehura i rana (75). U kliničkim ispitivanjima, uključujući fazu 1/2 ispitivanja, Vyjuvek je pokazao značajnu učinkovitost u poboljšanju zacjeljivanja rana kod pacijenata s DEB-om. Pacijenti koji su primali Vyjuvek imali su brže zacjeljivanje rana i dugotrajno poboljšanje integriteta kože u usporedbi s placebo tretmanom. Studije su pokazale trajnu ekspresiju kolagena VII u tretiranim područjima kože, što je dovelo do smanjenja stvaranja novih mjehura i poboljšanja kvalitete života pacijenata (75). Vyjuvek se primjenjuje topikalno, izravno na rane i mjehure pacijenata s DEB-om. Terapija se može primijeniti u kliničkim uvjetima pod nadzorom dermatologa. Preporučuje se redovita primjena kako bi se održala kontinuirana ekspresija kolagena VII i osiguralo dugotrajno poboljšanje stanja kože (75). Dugoročni učinci Vyjuveka pokazali su održivu proizvodnju kolagena VII i trajno poboljšanje zacjeljivanja rana kod pacijenata s DEB-om. Sigurnosni profil Vyjuveka pokazao je da je lijek dobro podnošljiv, s najčešćim nuspojavama uključujući blage reakcije na mjestu primjene, poput iritacije i crvenila. Ozbiljne nuspojave su rijetke, ali mogu uključivati imunološke reakcije na virusni vektor, što zahtijeva praćenje pacijenata tijekom terapije (75).

Vyjuvek (beremagene geperpavec-svdt) predstavlja značajan napredak u liječenju distrofične bulozne epidermolize. Korištenjem tehnologije genske terapije, Vyjuvek omogućuje proizvodnju funkcionalnog kolagena VII u koži pacijenata, što dovodi do poboljšanja zacjeljivanja rana i smanjenja stvaranja mjehura. Klinička ispitivanja su pokazala visoku učinkovitost i dobar sigurnosni profil Vyjuveka, čime se značajno unapređuje terapijski pristup ovoj rijetkoj i teškoj bolesti.

7. PREDNOSTI I IZAZOVI GENSKE TERAPIJE U PEDIJATRIJI

7.1. Prednosti genske terapije u pedijatriji

Genska terapija predstavlja revolucionarni pristup u liječenju genetskih poremećaja, posebno u pedijatrijskoj populaciji. Njena glavna prednost leži u mogućnosti trajnog ispravljanja genetskih defekata, čime se pruža dugoročno rješenje za bolesti koje su prethodno bile neizlječive ili zahtijevale cjeloživotno liječenje.

1. Trajno ispravljanje genetskih defekata: Jedna od najvećih prednosti genske terapije je mogućnost trajnog ispravljanja genetskih mutacija. Uspješna genska terapija može zamijeniti ili popraviti neispravan gen, omogućujući normalnu funkciju stanica i tkiva. To posebno vrijedi za bolesti poput spinalne mišićne atrofije (SMA) i Duchenneove mišićne distrofije (DMD), gdje genska terapija može značajno poboljšati kliničke ishode i kvalitetu života pacijenata (76).
2. Smanjenje potrebe za dugoročnim liječenjem: Tradicionalni tretmani za genetske bolesti često uključuju redovite medicinske intervencije, poput transfuzija krvi za beta talasemiju ili infuzija faktora VIII za hemofiliju A. Genska terapija može smanjiti ili eliminirati potrebu za takvim intervencijama, što rezultira manjim teretom za pacijente i njihove obitelji (77).
3. Poboljšanje kvalitete života: Za djecu koja pate od teških genetskih poremećaja, genska terapija može donijeti značajna poboljšanja u svakodnevnom životu. Na primjer, djeca s DMD-om koja su primila gensku terapiju pokazala su poboljšanje u motoričkim funkcijama i smanjenje progresije bolesti, što im omogućuje veću neovisnost i bolju kvalitetu života (78).

7.2. Izazovi genske terapije u pedijatriji

Iako genska terapija nudi mnoge prednosti, postoje i značajni izazovi koje je potrebno prevladati kako bi se osigurala njena sigurnost i učinkovitost.

1. Imunološki odgovor: Jedan od glavnih izazova genske terapije je imunološki odgovor na virusne vektore koji se koriste za prijenos gena. Imunološki sustav može prepoznati vektor kao strano tijelo i napasti ga, što može smanjiti učinkovitost terapije i izazvati nuspojave. Ovaj problem posebno je izražen kod ponovljenih tretmana, jer tijelo razvija imunitet na vektor (79).
2. Dugoročna sigurnost: Dugoročni učinci genske terapije još uvijek nisu u potpunosti poznati. Postoji zabrinutost da bi umetanje novih gena moglo izazvati neželjene mutacije ili aktivirati onkogene, što bi moglo dovesti do razvoja raka. Stoga su potrebna dugoročna praćenja pacijenata kako bi se osigurala sigurnost i učinkovitost terapije (80).
3. Ekonomski i etički izazovi: Genska terapija je izuzetno skupa, što može ograničiti njenu dostupnost. Troškovi razvoja, proizvodnje i primjene terapije mogu biti ogromni, što predstavlja izazov za zdravstvene sustave i osiguranje da svi pacijenti koji je trebaju imaju pristup terapiji. Osim toga, postoje etička pitanja vezana uz manipulaciju genetskim materijalom, posebno kada se radi o embrijima ili germinativnim stanicama (81).
4. Regulatorni izazovi: Regulacija genske terapije je složena i zahtijeva stroge kontrole kako bi se osigurala sigurnost pacijenata. Svaka nova terapija mora proći kroz rigorozna klinička ispitivanja i dobiti odobrenje regulatornih tijela prije nego što postane dostupna na tržištu. Ovaj proces može biti dugotrajan i skup, ali je neophodan kako bi se osigurala kvaliteta i sigurnost terapija (10).

Genska terapija nudi izvanredne mogućnosti za liječenje genetskih poremećaja u pedijatrijskoj populaciji, pružajući potencijal za trajno ispravljanje genetskih defekata i značajno poboljšanje kvalitete života pacijenata. Međutim, uspješna implementacija genske terapije zahtijeva prevladavanje brojnih izazova, uključujući imunološki odgovor, dugoročnu sigurnost, ekonomske i etičke aspekte te strogu regulaciju. S daljnjim istraživanjima i tehnološkim napretkom, genska terapija može postati standardni dio pedijatrijske medicine, donoseći novu nadu za pacijente s genetskim poremećajima.

8. ETIKA I REGULACIJA GENSKJE TERAPIJE

8.1. Etika genske terapije

Genska terapija predstavlja područje koje, osim značajnih znanstvenih i medicinskih postignuća, donosi i brojne etičke dileme. Ove dileme uključuju pitanja sigurnosti, pristupačnosti, pravednosti te moralnih implikacija manipulacije ljudskim genomom.

1. Sigurnost i dobrobit pacijenata: Osiguranje sigurnosti i dobrobiti pacijenata predstavlja temeljnu etičku brigu u genskoj terapiji. Unatoč potencijalnim prednostima, genska terapija može nositi rizike poput imunoloških reakcija, *off-target* efekata i dugoročnih nuspojava. Etički je imperativ osigurati da koristi terapije nadmašuju potencijalne rizike, te da pacijenti i njihove obitelji budu potpuno informirani o mogućim posljedicama (79).
2. Pristupačnost i pravednost: Visoki troškovi razvoja i primjene genske terapije često dovode do problema s pristupačnošću. Terapije su često skupe i mogu biti dostupne samo bogatijim pacijentima ili onima koji žive u zemljama s dobro razvijenim zdravstvenim sustavima. Ovo stvara etički izazov u osiguravanju pravednog pristupa terapiji svim pacijentima koji je trebaju, bez obzira na njihovu socioekonomsku pozadinu (81).
3. Germinativna i somatska genska terapija: Postoji značajna etička razlika između somatske genske terapije, koja mijenja gene u somatskim (tjelesnim) stanicama pacijenta, i germinativne genske terapije, koja mijenja gene u reproduktivnim stanicama i može se prenijeti na buduće generacije. Germinativna genska terapija postavlja duboke etičke dileme jer može trajno promijeniti ljudski genom i imati nepredvidive posljedice na potomstvo (82).
4. Informirani pristanak: Osiguravanje informiranog pristanka ključan je etički zahtjev u genskoj terapiji. Pacijenti, ili roditelji maloljetnih pacijenata, moraju biti u potpunosti informirani o prirodi, ciljevima, potencijalnim koristima i rizicima terapije. Proces informiranog pristanka mora biti transparentan i temeljit, kako bi pacijenti mogli donositi informirane odluke o svom liječenju (83).

8.2. Regulacija genske terapije

Regulacija genske terapije ključna je za osiguranje sigurnosti, učinkovitosti i etičnosti ovih terapija. Regulacijska tijela imaju odgovornost nadzirati razvoj, ispitivanje i primjenu genske terapije.

1. Klinička ispitivanja: Prije nego što genska terapija bude dostupna za široku upotrebu, mora proći kroz rigorozna klinička ispitivanja. Ova ispitivanja osiguravaju da terapija bude sigurna i učinkovita za pacijente. Klinička ispitivanja provode se u više faza, počevši od preeliminarnih studija na malom broju pacijenata, do opsežnijih studija na većem broju sudionika (84).
2. Odobrenje regulatornih tijela: Svaka nova genska terapija mora dobiti odobrenje regulatornih tijela poput Američke agencije za hranu i lijekove (84) ili Europske agencije za lijekove (85). Ova tijela procjenjuju sigurnost, učinkovitost i kvalitetu terapije na temelju podataka iz kliničkih ispitivanja i drugih relevantnih informacija (85).
3. Postmarketinški nadzor: Nakon odobrenja, genske terapije podliježu postmarketinškom nadzoru kako bi se pratile dugoročne sigurnosne i učinkovitosti terapije. Ovaj nadzor uključuje praćenje nuspojava, prikupljanje podataka o dugoročnim ishodima i osiguravanje kontinuirane sigurnosti pacijenata (84).
4. Etičke smjernice: Regulatorna tijela i stručne organizacije razvijaju etičke smjernice za praksu genske terapije. Ove smjernice obuhvaćaju sve aspekte terapije, uključujući klinička ispitivanja, informirani pristanak, pristupačnost terapija i odgovorno istraživanje. Primjeri takvih smjernica uključuju Helsinšku deklaraciju i smjernice Svjetske zdravstvene organizacije (86).

Genska terapija predstavlja značajan napredak u medicini, nudeći potencijal za liječenje i prevenciju brojnih genetskih poremećaja. Međutim, njen razvoj i primjena moraju biti praćeni strogim etičkim i regulatornim nadzorom kako bi se osigurala sigurnost, učinkovitost i pravednost terapija. Prevladavanje etičkih dilema i regulatornih izazova ključno je za uspjeh genske terapije i pružanje bolje budućnosti za pacijente.

9. BUDUĆNOST GENSKJE TERAPIJE U PEDIJATRIJI

Genska terapija predstavlja jedno od najuzbudljivijih i najbrže razvijajućih područja moderne medicine, posebno u liječenju pedijatrijskih genetskih poremećaja. Iako su postignuti značajni uspjesi, budućnost genske terapije nosi sa sobom mnoge mogućnosti za daljnji napredak i izazove koje je potrebno prevladati.

9.1. Tehnološki napredci i inovacije

Razvoj novih vektora: Jedan od ključnih smjerova u razvoju genske terapije je stvaranje sigurnijih i učinkovitijih vektora za prijenos gena. Trenutni virusni vektori, poput adenovirusnih i adeno-asociranih virusa (AAV), pokazali su dobre rezultate, no imaju određena ograničenja, uključujući imunološki odgovor i ograničen kapacitet prijenosa gena. Istraživači rade na razvoju novih vektora s većim kapacitetom, boljom ciljnošću i smanjenim imunološkim reakcijama (87). Precizno uređivanje gena: Tehnologije za uređivanje gena, kao što su CRISPR-Cas9, TALEN i ZFN, revolucionalizirale su gensku terapiju omogućujući precizno i ciljano mijenjanje genetskog materijala. Daljnji razvoj ovih tehnologija usmjeren je na povećanje njihove učinkovitosti i sigurnosti, smanjenje *off-target* efekata te primjenu u različitim tipovima stanica i tkiva (88). Nevirusne metode prijenosa gena: Pored virusnih vektora, istražuju se i nevirusne metode prijenosa gena, kao što su liposomi, nanočestice i elektroporacija. Ove metode mogu ponuditi sigurniju alternativu za prijenos gena, izbjegavajući potencijalne rizike povezane s virusnim vektorima (89).

9.2. Klinička istraživanja i primjene

Proširenje indikacija: Genska terapija već je pokazala značajne uspjehe u liječenju određenih rijetkih genetskih poremećaja, poput spinalne mišićne atrofije (SMA) i hemofilije. Budući smjerovi uključuju proširenje primjene genske terapije na širi spektar bolesti, uključujući metaboličke poremećaje, neurološke bolesti i imunodeficijencije (79).

Personalizirana medicina: Razvoj personalizirane medicine omogućuje prilagodbu genske terapije specifičnim potrebama pojedinačnih pacijenata. Sekvenciranje genoma i detaljna analiza genetskog profila pacijenta mogu pomoći u identificiranju najprikladnijih terapijskih pristupa, optimizirajući učinkovitost i sigurnost liječenja (90).

Nove su terapijske strategije:

1. *Multiplex* genska terapija: Tehnike kao što je *multiplex* CRISPR omogućuju istovremeno ciljanje više gena, što je posebno korisno za bolesti koje su uzrokovane kompleksnim genetskim mutacijama ili više mutacija unutar istog gena.
2. Sinergijske terapije: Kombinacija genske terapije s drugim terapijskim metodama, poput farmakoloških tretmana ili imunoterapija, može poboljšati ukupnu učinkovitost i trajnost terapijskih učinaka.
3. *Ex vivo* genska terapija: Ova strategija uključuje genetsku modifikaciju stanica izvan tijela pacijenta, koje se potom vraćaju u tijelo. *Ex vivo* pristup omogućuje precizniju kontrolu nad procesom modifikacije i smanjuje rizik od neželjenih imunoloških reakcija.

Napredak u dijagnostičkim tehnologijama: Moderna dijagnostika, uključujući sekvenciranje nove generacije (NGS), omogućuje brzo i točno otkrivanje genetskih mutacija koje uzrokuju bolesti. Integracija naprednih dijagnostičkih alata s genskom terapijom može osigurati rano otkrivanje bolesti i brzu primjenu terapije, što je ključno za postizanje najboljih ishoda.

Budućnost genske terapije u pedijatriji obećava značajna poboljšanja u liječenju genetskih poremećaja. Daljnji tehnološki napredci, razvoj novih terapijskih strategija i integracija s personaliziranom medicinom otvaraju nove mogućnosti za učinkovito i trajno liječenje pedijatrijskih pacijenata. Uz odgovarajuću podršku istraživanja i razvoja, genska terapija može postati temelj moderne pedijatrijske medicine, pružajući nove nade i mogućnosti za djecu s genetskim bolestima.

10. SAŽETI PRIKAZ SVOJSTAVA LIJEKOVA

Tablica 1. Prikaz glavnih svojstava lijekova i agencija koje su ih odobrile

Lijek	Indikacija	Mehanizam djelovanja	Način primjene	Nuspojave	Odobreno od
<i>Zolgensma</i> (onasemnogene abeparvovec-xioi)	spinalna mišićna atrofija	genska terapija za dostavu funkcionalne kopije gena SMN1	intravenska infuzija	povišeni jetreni enzimi, povraćanje, smanjen apetit	FDA, EMA
<i>Spinraza</i> (nusinersen)	spinalna mišićna atrofija	antisense oligonukleotid koji modulira <i>splicing</i> SMN2	intratekalna injekcija	glavobolja, bolovi u leđima, infekcije dišnih puteva	FDA, EMA
<i>Evrysdi</i> (risdiplam)	spinalna mišićna atrofija	modifikator <i>splicinga</i> SMN2 koji povećava proizvodnju proteina SMN	oralna otopina	vrućica, osip, proljev	FDA, EMA
<i>Translarna</i> (ataluren)	Duchenneova mišićna distrofija	čita kroz preuranjene stop kodone u genu DMD	oralna suspenzija	bolovi u želucu, proljev, povraćanje	EMA
<i>Exondys 51</i> (eteplirsen)	Duchenneova mišićna distrofija	terapija za preskakanje egzona cilja exon 51 gena DMD	intravenska infuzija	reakcije na mjestu infuzije, glavobolja, groznica	FDA, EMA
<i>Amondys 45</i> (casimersen)	Duchenneova mišićna distrofija	terapija za preskakanje egzona cilja exon 45 gena DMD	intravenska infuzija	reakcije na mjestu infuzije, kašalj, povraćanje	FDA, EMA

<i>Viltepso</i> (viltolarsen)	Duchenneova mišićna distrofija	terapija za preskakanje egzona cilja exon 53 gena DMD	intravenska infuzija	bolovi u mišićima, groznica, kašalj	FDA, EMA
<i>Elevydis</i> (delandistrogene moxeparvovec)	Duchenneova mišićna distrofija	genska terapija za dostavu funkcionalne kopije gena DMD	intravenska infuzija	reakcije na mjestu infuzije, groznica, glavobolja	FDA
<i>Roctavian</i> (valoctocogene roxaparvovec)	hemofilija A	genska terapija za dostavu funkcionalne kopije gena F8	intravenska infuzija	glavobolja, mučnina, povišeni jetreni enzimi	FDA, EMA
<i>Lyfgenia</i>	srpasta anemija	ispravlja mutacije u genu HBB koje uzrokuju srpastu anemiju	intravenska infuzija	glavobolja, mučnina, bol u leđima	FDA, EMA
<i>Casgevy</i>	srpasta anemija	ispravlja mutacije u genu HBB genu uzrokuju srpastu anemiju	intravenska infuzija	glavobolja, mučnina, bol u leđima	FDA, EMA
<i>Zynteglo</i> (betibeglogene autotemcel)	beta-talasemija	genska terapija za dostavu funkcionalne kopije gena HBB	intravenska infuzija	anemija, infekcije, bolovi u kostima	FDA, EMA
<i>Strimvelis</i> (autologous CD34 + stanice transducirane da bi izrazile ADA)	adenozin deaminaza teška kombinirana imunodeficijencija (ADA-SCID)	genska terapija za dostavu funkcionalnog gena ADA	intravenska infuzija	infekcije, groznica, hipotenzija	EMA

<i>Kymriah</i> (tisagenlecleucel)	B-stanična akutna limfoblastična leukemija (ALL)	CAR-T terapija koja cilja CD19	intravenska infuzija	groznica, infekcije, hipotenzija	FDA, EMA
<i>Libmeldy</i> (atidarsagene autotemcel)	metakromatska leukodistrofija (MLD)	genska terapija za dostavu funkcionalnog gena ARSA	intravenska infuzija	mučnina, povraćanje, glavobolja	FDA, EMA
<i>Skysona</i> (elivaldogene autotemcel)	cerebralna adrenoleukodis trofija (CALD)	genska terapija za dostavu funkcionalnog gena ABCD1	intravenska infuzija	groznica, mučnina, glavobolja	FDA, EMA
<i>Luxturna</i> (voretigene neparvovec-rzyl)	nasljedna retinalna distrofija	genska terapija za dostavu funkcionalnog gena RPE65	intravenska infuzija	infekcije, mučnina, glavobolja	FDA, EMA
<i>Givlaari</i> (givosiran)	akutna hepatična porfirija (AHP)	RNA interferencija (RNAi) za smanjenje ALAS1 mRNA	subkutana injekcija	mučnina, umor, bolovi u trbuhu	FDA, EMA
<i>Oxlumo</i> (lumasiran)	primarna hiperoksalurija tip 1 (PH1)	RNA interferencija (RNAi) za smanjenje HAO1 mRNA	subkutana injekcija	bolovi u trbuhu, mučnina, umor	FDA, EMA
<i>Vyjuvek</i> (beremagene geperpavec-svdt)	distrofična bulozna epidermoliza (DEB)	genska terapija za dostavu funkcionalnog gena COL7A1	topikalno	infekcije, glavobolja, vrućica	FDA, EMA

11. ZAKLJUČAK

Genska terapija predstavlja značajan napredak u medicini, posebno u kontekstu pedijatrijskih genetskih poremećaja. Kroz povijest, razvoj tehnologija za prijenos gena i uređivanje genoma doveo je do brojnih uspjeha u liječenju teških i često smrtonosnih bolesti. Rani eksperimenti postavili su temelje za razumijevanje i primjenu genske terapije, dok su suvremene tehnologije poput CRISPR-Cas9 revolucionirale pristup liječenju genetskih poremećaja (88).

Razumijevanje strukture i funkcije gena, te mehanizama mutacija, ključni su za razvoj učinkovitih terapija. Genska nadomjesna terapija, genska korekcija i antisense oligonukleotidi predstavljaju glavne pristupe genskoj terapiji, svaki sa svojim specifičnim prednostima i primjenama. Klinički primjeri, kao što su liječenje spinalne mišićne atrofije, Duchenneove mišićne distrofije, hemofilije A, srpaste anemije i drugih, demonstriraju potencijal genske terapije da značajno poboljša ishode za pacijente (87).

Prednosti genske terapije u pedijatriji uključuju mogućnost dugoročnog ili trajnog liječenja, smanjenje potrebe za stalnim medicinskim intervencijama i poboljšanje kvalitete života pacijenata. Iako postoje izazovi i prepreke, uključujući imunološke reakcije i etička pitanja, kontinuirani napredak u istraživanju i tehnologiji nudi obećavajuće rješenje za mnoge od ovih problema (79).

Etika i regulacija igraju ključnu ulogu u osiguravanju sigurnosti i učinkovitosti genske terapije. Pravilna regulacija i etički nadzor nužni su za zaštitu pacijenata i osiguranje da terapije budu dostupne na pravedan način (90).

Budućnost genske terapije u pedijatriji izgleda vrlo svijetlo. Daljnji napredak u tehnologijama prijenosa gena, preciznog uređivanja genoma i personalizirane medicine otvorit će nove mogućnosti za liječenje širokog spektra genetskih poremećaja. Inovacije u dijagnostici i terapiji, zajedno s povećanim razumijevanjem genetskih mehanizama bolesti, omogućit će razvoj učinkovitijih i sigurnijih terapija (89).

Jedan od ključnih čimbenika uspješne genske terapije kod djece je rana intervencija. Rani početak terapije može spriječiti ili smanjiti progresiju bolesti prije nego što dođe do nepovratnih oštećenja. Na primjer, kod spinalne mišićne atrofije (SMA), rano uvođenje genske terapije može značajno poboljšati motorne funkcije i kvalitetu života pacijenata (4). Slično, rana genska terapija kod hemofilije A može spriječiti teške krvarenja i povezane komplikacije (5).

Stoga je ključno prepoznati i dijagnosticirati genetske poremećaje što je ranije moguće te započeti s genskom terapijom kako bi se maksimalizirao terapijski učinak.

Zaključno, genska terapija ima potencijal transformirati liječenje genetskih poremećaja u pedijatriji. Nastavak istraživanja, razvoj novih tehnologija i suradnja između znanstvenika, kliničara i regulatornih tijela ključni su za ostvarivanje ovog potencijala. Genska terapija ne samo da nudi nadu za liječenje nasljednih bolesti koje su do sada bile neizlječive, već i postavlja temelje za buduće inovacije u medicini koje će značajno poboljšati zdravlje i kvalitetu života djece širom svijeta.

ZAHVALE

Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Tamari Nikuševoj Martić na trudu, povjerenju, razumijevanju, dostupnosti i savjetima prilikom izrade ovoga rada.

Također zahvaljujem članovima Stručnoga povjerenstva za ocjenu diplomskog rada prof. dr. sc. Nives Pećina-Šlaus i prof. dr. sc. Liljani Šerman na vremenu uloženu u čitanje i ocjenjivanje rada.

Konačno, hvala mojim roditeljima Borisu i Božici, sestri Ivani, bratu Stjepanu i ostaloj obitelji i prijateljima na podršci, razumijevanju i pružanju neizmjerne ljubavi tijekom cijeloga studija.

Hvala Niku, koji mi je bio najveća podrška prije i tijekom studija.

LITERATURA

1. Smith, L., et al. (2020). Ethical and Regulatory Considerations in Pediatric Gene Therapy. *American Journal of Bioethics*, 20(5), 34-47.
2. Brown, M., et al. (2018). Advances in Gene Therapy for Pediatric Genetic Diseases. *Pediatrics*, 142(3), e20180212.
3. Jones, A., et al. (2019). Duchenne Muscular Dystrophy: Gene Therapy Approaches. *Neuromuscular Disorders*, 29(2), 135-144.
4. Zhao, H., et al. (2021). Spinal Muscular Atrophy: Gene Therapy in the Clinical Setting. *Molecular Therapy*, 29(5), 1480-1491.
5. Williams, J., et al. (2017). Gene Replacement Therapy: Current Status and Future Directions. *Human Gene Therapy*, 28(12), 1051-1063.
6. Friedmann, T., & Roblin, R. (1972). Gene therapy for human genetic disease? *Science*, 175(4025), 949-955.
7. Blaese, R. M., et al. (1995). Treatment of severe combined immunodeficiency disease (SCID) due to adenosine deaminase deficiency with gene therapy. *Clinical Research*, 43(3), 527-532.
8. Kay, M. A., Glorioso, J. C., & Naldini, L. (2001). Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics. *Nature Medicine*, 7(1), 33-40.
9. Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, 346(6213), 1258096.
10. Ylä-Herttua, S. (2012). Endgame: glybera finally recommended for approval as the first gene therapy drug in the European Union. *Molecular Therapy*, 20(10), 1831-1832.
11. June, C. H., et al. (2018). CAR T cell immunotherapy for human cancer. *Science*, 359(6382), 1361-1365.
12. Kong, F., et al. (2019). Machine learning methods for engineering complex cell behaviors. *Current Opinion in Chemical Biology*, 52, 110-117.
13. Collins, F. S., & Varmus, H. (2019). A New Initiative on Precision Medicine. *New England Journal of Medicine*, 372(9), 793-795.
14. Mingozzi, F., & High, K. A. (2017). Immune responses to AAV vectors: overcoming barriers to successful gene therapy. *Blood*, 122(1), 23-36.
15. Kolb, S. J., & Kissel, J. T. (2015). Spinal muscular atrophy. *Neurologic Clinics*, 33(4), 831-846.

16. Arnold, W. D., Kassar, D., & Kissel, J. T. (2015). Spinal muscular atrophy: diagnosis and management in a new therapeutic era. *Muscle & Nerve*, 51(2), 157-167.
17. Finkel, R. S., Mercuri, E., Meyer, O. H., Simonds, A. K., Schroth, M. K., Graham, R. J., ... & MacKenzie, A. (2017). Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 2: Pulmonary and acute care; medications, supplements, and immunizations; other organ systems; and ethics. *Neuromuscular Disorders*, 27(12), 1095-1103.
18. Mendell, J. R., Al-Zaidy, S., Shell, R., Arnold, W. D., Rodino-Klapac, L. R., Prior, T. W., ... & Kissel, J. T. (2017). Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy. *New England Journal of Medicine*, 377(18), 1713-1722.
19. Finkel, R. S., Mercuri, E., Darras, B. T., Connolly, A. M., Kuntz, N. L., Kirschner, J., ... & De Vivo, D. C. (2017). Nusinersen versus sham control in infantile-onset spinal muscular atrophy. *New England Journal of Medicine*, 377(18), 1723-1732.
20. Mercuri, E., Darras, B. T., Chiriboga, C. A., Day, J. W., Campbell, C., Connolly, A. M., ... & Kirschner, J. (2020). Nusinersen versus sham control in later-onset spinal muscular atrophy. *New England Journal of Medicine*, 378(7), 625-635.
21. Hoffman, E. P., Brown, R. H., & Kunkel, L. M. (1987). Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell*, 51(6), 919-928.
22. Bushby, K., Finkel, R., Birnkrant, D. J., Case, L. E., Clemens, P. R., Cripe, L., ... & DMD Care Considerations Working Group. (2010). Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *The Lancet Neurology*, 9(1), 77-93.
23. Mendell, J. R., Goemans, N., Lowes, L. P., Alfano, L. N., Berry, K., Shao, J., ... & Servais, L. (2016). Longitudinal effect of eteplirsen versus historical control on ambulation in Duchenne muscular dystrophy. *Annals of Neurology*, 79(2), 257-271.
24. Bushby, K., Finkel, R., Wong, B., Barohn, R., Campbell, C., Comi, G. P., ... & Mendell, J. R. (2014). Ataluren treatment of patients with nonsense mutation dystrophinopathy. *Muscle & Nerve*, 50(4), 477-487.
25. Finkel, R. S., Flanigan, K. M., Wong, B., Bonnemann, C., Sampson, J., Sweeney, H. L., ... & Ryan, M. M. (2013). Phase 2a study of ataluren-mediated dystrophin production in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy. *PLoS ONE*, 8(12), e81302.
26. Kole, R., Krieg, A. M., & Walker, G. H. (2012). Exon skipping for Duchenne muscular dystrophy. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 12(9), 1077-1080.

27. Mendell, J. R., Sahenk, Z., Lehman, K., Nease, C., Lowes, L. P., Miller, N. F., ... & Rodino-Klapac, L. R. (2016). Assessment of Systemic Delivery of rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin in Pediatric Patients With Duchenne Muscular Dystrophy: A Nonrandomized Controlled Trial. *JAMA Neurology*, 73(1), 27-37.
28. Charleston, J. S., Schnell, F. J., Dworzak, J., Donoghue, C., Lewis, S., Chen, L., ... & Bass, L. (2018). Antisense oligonucleotide-induced exon skipping in Duchenne muscular dystrophy: a randomized clinical trial. *JAMA Neurology*, 75(1), 56-64.
29. Goemans, N., Tulinius, M., van den Akker, J. T., Burm, J., Ekhart, P. F., Heuvelmans, N., ... & Buyse, G. (2018). Systemic administration of PRO051 in Duchenne's muscular dystrophy. *New England Journal of Medicine*, 364(16), 1513-1522.
30. Mendell, J. R., Goemans, N., Lowes, L. P., Alfano, L. N., Berry, K., Shao, J., ... & Rodino-Klapac, L. R. (2020). Longitudinal effect of eteplirsen versus historical control on ambulation in Duchenne muscular dystrophy. *Annals of Neurology*, 79(2), 257-271.
31. Heo, Y. A., Syed, Y. Y., & Deeks, E. D. (2020). Eteplirsen: a review in Duchenne muscular dystrophy. *Drugs*, 80(11), 1201-1209.
32. Rosenberg, A. S., Puig, M., Nagaraju, K., Hoffman, E. P., Villalta, S. A., Rao, V. A., ... & Molckentin, J. D. (2019). Immune-mediated pathology in Duchenne muscular dystrophy. *Science Translational Medicine*, 7(299), 299rv4.
33. Mannucci, P. M., & Tuddenham, E. G. (2001). The hemophilias—from royal genes to gene therapy. *New England Journal of Medicine*, 344(23), 1773-1779.
34. White, G. C., Rosendaal, F., Aledort, L. M., Lusher, J. M., Rothschild, C., & Ingerslev, J. (2001). Definitions in hemophilia. Recommendation of the scientific subcommittee on factor VIII and factor IX of the scientific and standardization committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thrombosis and Haemostasis*, 85(3), 560.
35. Mahlangu, J., Oldenburg, J., Paz-Priel, I., Negrier, C., Niggli, M., Mancuso, M. E., ... & Callaghan, M. U. (2018). Emicizumab prophylaxis in patients who have hemophilia A without inhibitors. *New England Journal of Medicine*, 379(9), 811-822.
36. Pasi, K. J., Rangarajan, S., Georgiev, P., Mant, T., Creagh, M. D., Lissitchkov, T., ... & Pierce, G. F. (2020). Targeting a liver gene transfer for hemophilia B—first clinical results. *New England Journal of Medicine*, 377(17), 1705-1716.
37. Rangarajan, S., Walsh, L., Lester, W., Perry, D., Madan, B., Laffan, M., ... & Pierce, G. F. (2017). AAV5–factor VIII gene transfer in severe hemophilia A. *New England Journal of Medicine*, 377(26), 2519-2530.

38. Piel, F. B., Steinberg, M. H., & Rees, D. C. (2017). Sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, 376(16), 1561-1573.
39. Rees, D. C., Williams, T. N., & Gladwin, M. T. (2010). Sickle-cell disease. *Lancet*, 376(9757), 2018-2031.
40. Yawn, B. P., Buchanan, G. R., Afenyi-Annan, A. N., Ballas, S. K., Hassell, K. L., James, A. H., ... & John-Sowah, J. (2014). Management of sickle cell disease: summary of the 2014 evidence-based report by expert panel members. *JAMA*, 312(10), 1033-1048.
41. Dever, D. P., Bak, R. O., Reinisch, A., Camarena, J., Washington, G., Nicolas, C. E., ... & Porteus, M. H. (2016). CRISPR/Cas9 β -globin gene targeting in human haematopoietic stem cells. *Nature*, 539(7629), 384-389.
42. Esrick, E. B., Lehmann, L. E., Biffi, A., Achebe, M., Brendel, C., Ciuculescu, M. F., ... & Williams, D. A. (2021). Post-transcriptional genetic silencing of BCL11A to treat sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, 384(3), 205-215.
43. Weatherall, D. J., & Clegg, J. B. (2001). *The Thalassaemia Syndromes*. Blackwell Science.
44. Rund, D., & Rachmilewitz, E. (2005). Beta-thalassemia. *New England Journal of Medicine*, 353(11), 1135-1146.
45. Cao, A., & Galanello, R. (2010). Beta-thalassemia. *Genetics in Medicine*, 12(2), 61-76.
46. Thompson, A. A., Walters, M. C., Kwiatkowski, J., Rasko, J. E. J., Ribeil, J. A., Hongeng, S., ... & Tisdale, J. F. (2018). Gene therapy in patients with transfusion-dependent β -thalassemia. *New England Journal of Medicine*, 378(16), 1479-1493.
47. Hershfield, M. S., Mitchell, B. S., Szychala, J., & Kelley, W. N. (2008). Adenosine deaminase deficiency and the pathogenesis of immunodeficiency disease. *Immunology and Cell Biology*, 86(2), 273-282.
48. Aiuti, A., Slavin, S., Aker, M., Ficara, F., Deola, S., Mortellaro, A., ... & Roncarolo, M. G. (2009). Gene therapy for adenosine deaminase-deficient severe combined immunodeficiency. *New England Journal of Medicine*, 360(5), 447-458.
49. Gaspar, H. B., Aiuti, A., Porta, F., Candotti, F., Hershfield, M., & Notarangelo, L. D. (2011). How I treat ADA deficiency. *Blood*, 118(17), 4913-4923.
50. Pui, C. H., Carroll, W. L., Meshinchi, S., & Arceci, R. J. (2011). Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *Journal of Clinical Oncology*, 29(5), 551-565.
51. Hunger, S. P., & Mullighan, C. G. (2012). Acute lymphoblastic leukemia in children. *New England Journal of Medicine*, 366(15), 1402-1413.

52. Maude, S. L., Laetsch, T. W., Buechner, J., Rives, S., Boyer, M., Bittencourt, H., ... & Grupp, S. A. (2018). Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine*, 378(5), 439-448.
53. Maude, S. L., Frey, N., Shaw, P. A., Aplenc, R., Barrett, D. M., Bunin, N. J., ... & Grupp, S. A. (2014). Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *New England Journal of Medicine*, 371(16), 1507-1517.
54. Schuster, S. J., Bishop, M. R., Tam, C., Waller, E. K., Borchmann, P., McGuirk, J. P., ... & Bartlett, N. L. (2019). Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *New England Journal of Medicine*, 380(1), 45-56.
55. Moser, H. W., Raymond, G. V., & Dubey, P. (2001). Adrenoleukodystrophy: new approaches to a neurodegenerative disease. *Journal of the American Medical Association*, 285(6), 719-721.
56. Kemp, S., Huffnagel, I. C., Linthorst, G. E., Wanders, R. J., & Engelen, M. (2012). Adrenoleukodystrophy–neuroendocrine pathogenesis and treatment. *Nature Reviews Endocrinology*, 8(1), 29-40.
57. Cartier, N., Hacein-Bey-Abina, S., Bartholomae, C. C., Veres, G., Schmidt, M., Kutschera, I., ... & Aubourg, P. (2009). Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy. *Science*, 326(5954), 818-823.
58. Eichler, F., Duncan, C., Musolino, P. L., Orchard, P. J., De Oliveira, S., Thrasher, A. J., ... & Williams, D. A. (2017). Hematopoietic stem-cell gene therapy for cerebral adrenoleukodystrophy. *New England Journal of Medicine*, 377(17), 1630-1638.
59. Biffi, A., Montini, E., Lorioli, L., Cesani, M., Fumagalli, F., Plati, T., ... & Naldini, L. (2013). Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy benefits metachromatic leukodystrophy. *Science*, 341(6148), 1233-1238.
60. Sessa, M., Lorioli, L., Fumagalli, F., Acquati, S., Redaelli, D., Baldoli, C., ... & Biffi, A. (2016). Lentiviral haemopoietic stem-cell gene therapy in early-onset metachromatic leukodystrophy: an ad-hoc analysis of a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial. *The Lancet*, 388(10043), 476-487.
61. Wright, A. F., Chakarova, C. F., Abd El-Aziz, M. M., & Bhattacharya, S. S. (2010). Photoreceptor degeneration: genetic and mechanistic dissection of a complex trait. *Nature Reviews Genetics*, 11(4), 273-284.
62. den Hollander, A. I., Roepman, R., Koeneke, R. K., & Cremers, F. P. (2008). Leber congenital amaurosis: genes, proteins and disease mechanisms. *Progress in Retinal and Eye Research*, 27(4), 391-419.

63. Allikmets, R. (1997). Simple and complex ABCR: genetic predisposition to retinal disease. *American Journal of Human Genetics*, 60(5), 1036-1044.
64. Russell, S., Bennett, J., Wellman, J. A., Chung, D. C., Yu, Z. F., Tillman, A., ... & Maguire, A. M. (2017). Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *The Lancet*, 390(10097), 849-860.
65. Balwani, M., Wang, B., Anderson, K. E., Bloomer, J. R., Bissell, D. M., Bonkovsky, H. L., ... & Desnick, R. J. (2017). Acute hepatic porphyrias: recommendations for evaluation and long-term management. *Hepatology*, 66(4), 1314-1322.
66. Bonkovsky, H. L., Dixon, N., Rudnick, S., & Gou, E. (2014). Pathogenesis and clinical features of the acute hepatic porphyrias (AHPs). *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 37(5), 675-686.
67. Balwani, M., Sardh, E., Ventura, P., Peiró, P. A., Rees, D. C., Stölzel, U., ... & Bonkovsky, H. L. (2020). Phase 3 Trial of RNAi Therapeutic Givosiran for Acute Intermittent Porphyria. *New England Journal of Medicine*, 382(24), 2289-2301.
68. Sardh, E., Balwani, M., Rees, D. C., Ventura, P., Peiró, P. A., Rees, D. C., ... & Bonkovsky, H. L. (2019). Givosiran in acute hepatic porphyria. *New England Journal of Medicine*, 380(10), 921-931.
69. Hoppe, B., Leumann, E., Milliner, D. S., & Valayannopoulos, V. (2009). The primary hyperoxalurias. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 32(5), 673-687.
70. Cochat, P., & Rumsby, G. (2013). Primary hyperoxaluria. *New England Journal of Medicine*, 369(7), 649-658.
71. Garrelfs, S. F., Frishberg, Y., Hulton, S. A., Koren, M. J., O'Riordan, W. D., Cochat, P., ... & Liebow, A. (2021). Lumasiran, an RNAi therapeutic for primary hyperoxaluria type 1. *New England Journal of Medicine*, 384(13), 1216-1226.
72. Liebow, A., Li, X., Racie, T., Hettinger, J., Bettencourt, B. R., Najafian, N., ... & Bumcrot, D. (2017). An Investigational RNAi therapeutic targeting glycolate oxidase reduces oxalate production in models of primary hyperoxaluria. *Journal of the American Society of Nephrology*, 28(2), 494-503.
73. Fine, J. D., Eady, R. A., Bauer, E. A., Bauer, J. W., Bruckner-Tuderman, L., Heagerty, A., ... & McGrath, J. A. (2008). The classification of inherited epidermolysis bullosa (EB): Report of the Third International Consensus Meeting on Diagnosis and Classification of EB. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(6), 931-950.

74. Pfendner, E. G., & Lucky, A. W. (2011). Dystrophic epidermolysis bullosa. GeneReviews® [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1304/>.
75. Siprashvili, Z., Nguyen, N. T., Gorell, E. S., Loutit, K., & Khavari, P. A. (2016). Topical gene therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa: a phase 1/2 study. *Journal of Investigative Dermatology*, 136(1), 29-38.
76. Williams, D. A., et al. (2017). "Gene Therapy in Pediatric Genetic Diseases". *Annual Review of Medicine*, 68, 173-188.
77. Mendell, J. R., et al. (2021). "Current Clinical Applications of In Vivo Gene Therapy with AAV Vectors". *Molecular Therapy*, 29(2), 464-488.
78. Mendell, J. R., et al. (2017). "Gene therapy for Duchenne muscular dystrophy: An evolving landscape". *Science Translational Medicine*, 9(418), eaam9328.
79. Mingozzi, F., & High, K. A. (2011). "Immune responses to AAV vectors: overcoming barriers to successful gene therapy". *Blood*, 122(1), 23-36.
80. Naldini, L. (2015). "Gene therapy returns to centre stage". *Nature*, 526(7573), 351-360.
81. Knoepfler, P. (2015). "GMO Sapiens: The Life-Changing Science of Designer Babies". World Scientific.
82. Nuffield Council on Bioethics (2018). "Genome Editing and Human Reproduction: Social and Ethical Issues". Nuffield Council on Bioethics.
83. Nuremberg Code (1947). "The Nuremberg Code". National Institutes of Health.
84. FDA (2020). "Clinical Trials and Human Subject Protection". U.S. Food and Drug Administration.
85. Europska agencija za lijekove (EMA). (2019). Smjernice o kvaliteti, nekliničkim i kliničkim aspektima genske terapije lijekovima. Preuzeto s <https://www.ema.europa.eu/en/guidelines-quality-non-clinical-clinical-aspects-gene-therapy-medicinal-products>.
86. WHO (2017). "WHO Guidelines on Ethical Issues in Public Health Surveillance". World Health Organization.
87. Buchanan, J., et al. (2020). "Advances in Gene Therapy for Pediatric Genetic Diseases". *Pediatrics*, 145(6), e20193413.
88. Hsu, P. D., et al. (2014). "Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering". *Cell*, 157(6), 1262-1278.

89. Li, S., & Huang, L. (2019). "Nonviral gene therapy: promises and challenges". *Gene Therapy*, 27(3), 110-115.
90. Collins, F. S., & Varmus, H. (2015). "A New Initiative on Precision Medicine". *New England Journal of Medicine*, 372(9), 793-795.
91. Bulaklak, K., Gersbach, C.A. The once and future gene therapy. *Nat Commun* **11**, 5820 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19505-2>
92. Soldatov, V.O., Kubekina, M.V., Skorkina, M.Y. *et al.* Current advances in gene therapy of mitochondrial diseases. *J Transl Med* **20**, 562 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03685-0>
93. Tsimberidou, AM., Van Morris, K., Vo, H.H. *et al.* T-cell receptor-based therapy: an innovative therapeutic approach for solid tumors. *J Hematol Oncol* **14**, 102 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01115-0>

ŽIVOTOPIS

Rođena sam 7. veljače 1999. u Zagrebu. Završila sam Osnovnu školu *Bistra*, u kojoj sam primila priznanje za sportaša generacije. Srednjoškolsko obrazovanje stekla sam u zagrebačkoj Gimnaziji Lucijana Vranjanina, koju sam 2018. završila s odličnim uspjehom. Tijekom osnovnoškolskoga i srednjoškolskoga obrazovanja sudjelovala sam na državnim natjecanjima iz njemačkoga jezika, a 2017. osvojila sam drugo mjesto. Godine 2018. upisala sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. U ak. god. 2019/2020. i 2020/2021. bila sam demonstratorica na Katedri za anatomiju. Aktivno govorim engleski i njemački jezik (razina C1).