

Dragan Primorac\*  
Ljubica Boban\*\*  
Elizabeta Topić\*\*\*

## PERSONALIZIRANA MEDICINA: MODEL SPECIJALNE BOLNICE SV. KATARINA

### Sažetak

Personalizirana medicina čiji je glavni postulat „prava terapija za pravog pacijenta u pravo vrijeme” u potpunosti će promijeniti koncept medicine koji trenutačno primjenjujemo u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Bazirana na postulatu da je svaki pacijent zasebna jedinica s jedinstvenom genetičkom podlogom i odgovorom na okolišne čimbenike, uvelike mijenja dosadašnja poimanja liječenja bolesti. Koristeći te spoznaje, u Specijalnoj bolnici Sv. Katarina, u suradnji s partnerskom tvrtkom Mayo klinike *One Ome*, koriste se proaktivni genetički testovi kojima je moguće utvrditi prisustvo patogenih mutacija odgovornih za nastanak pojedinih vrsta raka, kardiomiopatija i metaboličkih bolesti kod oboljelih osoba i osoba pod rizikom. Koristeći koncept personalizirane medicine i analize genoma razvijen je i farmakogenomski test (*RightMed*) koji omogućuje definiranje genomske podloge metaboliziranja preko 300 lijekova te individualno doziranje lijeka sukladno genomskoj predispoziciji pacijenta. Sastavni dio koncepta personalizirane medicine postali su i stanična i genska terapija, analiza glikana te regenerativna medicina.

Ključne riječi: personalizirana medicina, Specijalna bolnica Sv. Katarina; farmakogenomski test; genetički testovi

### 1. Personalizirana medicina

Koncept personalizirane medicine nedvojbeno će u cijelosti promijeniti medicinu koju prakticiramo danas. Osnova koncepta personalizirane ili kako se omdavna naziva precizne medicine temelji se na poznavanju i razumijevanju procesa na

\* prof. dr. sc. Dragan Primorac, spec. pedijatrijske medicine, forenzičar, genetičar i stalni sudski vještak. Specijalna bolnica Sv. Katarina Zabok; Medicinski fakulteti Sveučilišta u Splitu, Rijeci i Osijeku; Dječja bolnica Srebrnjak; Sveučilište Penn State i New Haven, SAD

\*\* dr. sc. Ljubica Boban, dr. med., Klinika za dječje bolesti Zagreb

\*\*\* prof. dr. sc. Elizabeta Topić, spec. medicinske biokemije i laboratorijske medicine, prof. u mirovini Farmaceutsko biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

molekularnoj razini što je istodobno ključno i u dizajniranju terapijskog postupka. Drugim riječima, analizom genoma dobivaju se informacije koje mogu biti važne za prevenciju nastanka bolesti, u ranoj dijagnostici, ali i pri odabiru optimalnog liječenja i praćenja učinkovitosti terapije. „Prava terapija za pravog pacijenta u pravo vrijeme” ključna je sintagma personalizirane medicine, a posebno je značajna kad je riječ o farmakogenomici. Međutim, u zadnje vrijeme, sastavni dio personalizirane medicine postaju stanična i genska terapija, analiza glikana te regenerativna medicina. O važnosti personalizirane medicine govori podatak da je Europska komisija osnovala *International Consortium of Personalized Medicine (ICPerMed)*, kao strateško tijelo u promicanju personalizirane medicine u Europi. Istodobno, s istim je ciljem u Hrvatskoj osnovan Hrvatski klaster konkurentnosti personalizirane medicine i Hrvatsko društvo za personaliziranu (preciznu) medicinu pri Hrvatskom liječničkom zboru. Ta tijela u simbiozi s Hrvatskim društvom za humanu genetiku (HDHG) imat će ključnu ulogu u razvoju i integraciji novih spoznaja molekularne medicine u kliničku praksu u Republici Hrvatskoj.

### 1.1. Genetika i personalizirana (precizna) medicina

Geni su građeni od osnovne nasljedne tvari ili molekula DNA, a nešto više od 23 000 gena kodira „poruke” koja će dovesti do sinteze proteina nužnih za naše funkcioniranje. Svakom živućem organizmu ključna je misija osigurati prijenos svog genetskog materijala na sljedeću generaciju, a osnovno pravilo genetike ističe da svaka osoba nasljeđuje 50 % genetskog materijala od oca, a 50 % od majke. Iz toga je očito zbog čega nasljeđivanje patogenog gena može imati ključnu ulogu u nastanku bolesti unutar neke obitelji.

Kao što je rečeno, nasljedne bolesti u svojoj podlozi imaju jedan ili više poremećaja u genomu što dovodi do niza vrlo specifičnih klinički vidljivih obilježja. Ako pojedinac u obitelji ima bliskog srodnika s određenom bolesti, ulazi u grupu osoba s visokom genskom osjetljivošću za nastanak bolesti. Roditelji na svoju djecu prenose nasljedna svojstva pa tako i patogene mutacije koje mogu povećati rizik od nastanka bolesti, uključujući zloćudne ili kardiovaskularne bolesti. Zbog toga ako se kod jednog člana obitelji utvrdi postojanje patogene mutacije postoji velika vjerojatnost da netko do njegove braće ili sestara nosi istu tu mutaciju.

Najčešće bolesti čovjeka uvjetovane su nizom čimbenika, odnosno multifaktor-ske su. Stoga te bolesti zovemo i složene bolesti jer su posljedica djelovanja većeg broja gena od kojih neki imaju vrlo značajan učinak, a neki tek manju ulogu u razvoju bolesti. Uz učinak više gena, bitan utjecaj na očitovanje tih poremećaja imaju čimbenici okoline poput pušenja, konzumiranja alkohola, pretilosti, infekcija (epigenomski čimbenici). Svojstva kao što su visina, konstitucija, kao i najčešće bolesti suvremenog čovjeka poput srčanih bolesti, raka, šećerne bolesti, astme, duševnih poremećaja te

izolirane nasljedne anomalije, nasljeđuju se multifaktorski, a koncept multifaktorskog tipa nasljeđivanja pretpostavlja da je stanje pojedinca (fenotip) posljedica kombinacija učinaka više gena od kojih neki imaju veći, a drugi manji utjecaj.

## 2. Proaktivni genetski testovi u bolnici Sv. Katarina

Temelji je cilj implementacije personalizirane medicine u kliničkoj praksi razumjeti molekularnu osnovu bolesti i sukladno tome razvijati najbolji mogući terapijski postupak. S ciljem ranog otkrivanja pojedinih patogenih mutacija, a kako bi se mogao prevenirati nastanak bolesti kreirani su tzv. proaktivni testovi. Proaktivni genetski testovi koji se odnedavno koriste u Specijalnoj bolnici Sv. Katarina u suradnji s američkom korporacijom *Invitae*, pokazali su da 16,1 % zdravih osoba u populaciji ima određeni genetski rizik za nastanak bolesti, no posebno značajno je to što među njima 7,2 % osoba posjeduju klinički relevantne varijante gena koje su povezane s nastankom kardiovaskularnih ili malignih oboljenja. Drugim riječima, genetski predisponirane osobe imaju veliku šansu da tijekom svog životnog vijeka razviju poremećaj u kojem nasljeđe igra presudnu ulogu, a jedini način za to utvrditi je uz pomoć genetičkog testiranja. Spoznaja o prisutnosti klinički relevantnih varijanti gena povezanih sa zdravstvenim rizicima, omogućuje predisponiranoj osobi da na vrijeme poduzme preventivne mjere i eliminira rizične čimbenike poput prehrane, pušenja, životnog stila i drugih okolišnih čimbenika koji mogu pridonijeti razvoju bolesti.

### 2.1. Analiza gena odgovornih za nastanak kardiovaskularne bolesti

Tijekom analize 77 gena povezanih s kardiovaskularnim bolestima, u Specijalnoj bolnici Sv. Katarina analizira se genetski materijal pacijenta na nasljednu sklonost obolijevanja od kardiomiopatija, posebice hipertrofijske kardiomiopatije te niza aritmija, ali i drugih stanja poput plućne arterijske hipertenzije, obiteljske hiperkolesterolemije, aortopatije itd. Rezultati tih testova mogu znatno pridonijeti prevenciji nastanka navedenih bolesti, ali i npr. u rizičnim skupinama i iznenadnu srčanu smrt. Naime, neke bolesti poput iznenadnog zatajenja srca iznimno teško je predvidjeti, jer u 50 % slučajeva te osobe nikada ranije nisu imali simptome koji bi nagovijestili takav dramatičan ishod. *American Heart Association* ističe da svake godine 350 000 Amerikanca doživi srčani zastoj koji će preživjeti svega 1 %. Zbog toga *American Heart Association*, *American College of Cardiology and Heart Rhythm Society* u svojim novim smjernicama ističu važnost i vrijednost genetičkog testiranja u određenim rizičnim skupinama. Ti testovi imaju i golem značaj u kliničkoj dijagnostici jer vrlo često standardni kardiološki pregledi mogu previdjeti ono što molekularnoj medicini uglavnom ne promiče.

## 2.2. Analiza gena povezanih s nastankom karcinoma

Zloćudne bolesti postaju glavni javnozdravstveni problem jer danas je rak drugi najvažniji uzrok smrti, odmah iza bolesti srca i krvnih žila. Oštećenje DNA molekula ključan je čimbenik u nastanku karcinoma. Naime, kad se mutacija (oštećenje DNA) dogodi u području tzv. onkogenih ili tumor-supresorskih gena, stanica se maligno transformira što rezultira nastankom i rastom karcinoma. Posebno je problematično postojanje mutacije unutar tzv. gena koji popravljaju DNA jer je u tom slučaju i zadnja linija obrane za razvoj karcinoma probijena. Na kraju, akumulacija niza oštećenja stanica, prvenstveno vezanih za ciljane gene poput onkogenih i tumor-supresorskih gena (odgovorni za regulaciju staničnog ciklusa, programirane stanične smrti i stabilnosti genoma), dovodi do nastajanja zloćudne stanice.

Na molekularnoj razini postoji konstantan proces popravljivanja oštećenih molekula DNA i zapravo o tom mehanizmu ovisi koliko je stanica sposobna sačuvati svoje funkcije. Koristeći sličan koncept (CRISPR-Cas9), danas smo u mogućnosti specifične sekvence oštećenih gena zamijeniti i oštećenom genu ponovno vratiti punu funkciju. Inače, o koliko značajnom i kompleksnom procesu se radi najbolje svjedoči podatak da svaka naša stanica dnevno „doživi”  $10^5$  (10 000) spontanih ili induciranih oštećenja na razini DNA i pravo je čudo zapravo s kolikom efikasnošću različiti stanični mehanizmi popravljaju takva oštećenja ne dozvoljavajući recimo učestaliji nastanak karcinoma. S druge strane, u slučaju ako određene mutacije zahvate gene koji proizvode proteine odgovorne za popravljivanje DNA ili neke druge gene koji direktno utječu na gubitak funkcije staničnog ciklusa, proces nastanka karcinoma je nezaustavljiv. Samo je pitanje u kojoj fazi će biti otkriven.

Jasno je stoga da je svaka nova dijagnostička metoda koja pridonosi ranom otkrivanju promjena koje će dovesti do maligne bolesti iznimna važna, a među njima je sigurno ključno i nezaobilazno genetičko testiranje, posebice u predisponiranih osobama. Zbog toga se navedena testiranja preporučuju posebno osobama u čijim obiteljima postoje oboljeli od zloćudnih ili kardiovaskularnih bolesti, osobama koje pripadaju populacijama u kojima postoji signifikantna učestalost patogenih mutacija ili koje imaju simptome koji sugeriraju na postojanje jedne od bolesti za koje postoji povezanost s patološkim mutacijama koje se analiziraju ovim genetičkim testom. Uz sve, navedeni proaktivni testovi posebno su osmišljeni kako bi zdravim odraslim osobama pomogli u razumijevanju utjecaja gena na njihovo zdravlje. S druge strane, gotovo je nemoguće danas uspješno liječiti rak bez korištenja koncepta personalizirane medicine, prvenstveno zbog toga što se farmakogenetskim analizama može utvrditi učinkovitost lijeka za svaku pojedinačno oboljelu osobu.

Proaktivni genetički test koji se koristi u Specijalnoj bolnici Sv. Katarina posebno je dizajniran kako bi se tijekom jednog testiranja istodobno analizirao 61 gen,

povezan s nastankom najčešćih karcinoma uključujući melanom, sarkom, rak želuca, prostate, dojke, jajnika, kolona, rektuma, mozga, gušterače, endokrinog sustava itd.

### 3. Primjer analize gena povezanih s nastankom karcinoma dojke i jajnika

#### 3.1. Klinički značaj *BRCA1* i *BRCA2* patogenih varijanti

Sustav koji se koristi u Specijalnoj bolnici Sv. Katarina uz gene *BRCA1* i *BRCA2* istodobno analizira i 12 drugih ključnih gena povezanih s nastankom karcinoma dojke: *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*, *TP53* te se time značajno povećava mogućnost otkrivanja rizika za nastanak karcinoma dojke u odnosu na to kada se analiziraju isključivo *BRCA1* i *BRCA 2* geni.

Rak dojke najčešća je lokacija raka u žena. Svaki mjesec 250 žena u Hrvatskoj oboli od raka dojke, a 90 ih umre. Nasljedni karcinom dojke i ovarija uzrokovan patogenim varijantama gena *BRCA1* i *BRCA2* najčešći je oblik nasljednog karcinoma obaju organa. Prevalencija (učestalost) u općoj populaciji procjenjuje se na 1: 400, no može značajno varirati, ovisno o etničkoj podlozi. *BRCA 1* (engl. *Breast cancer susceptibility gene 1*) i *BRCA 2* (engl. *Breast cancer susceptibility gene 2*) geni imaju svoj izražaj u dojci, ali i u drugim tkivima. Njihova je uloga ključna kako u popravljaju oštećene DNA, tako i u uništavanju stanica u kojima DNA ne može biti popravljena. Stoga mutacije unutar *BRCA1* i *BRCA 2* gena dovode do akumulacije oštećene DNA što u konačnici može voditi u razvoj karcinoma.

Klinički značaj *BRCA1* i *BRCA2* patogenih varijanti još je uvijek predmet rasprave, budući da neke osobe s patogenom varijantom mogu doživjeti duboku starost, a da ne razviju rak dojke ili jajnika, a oni koji razviju rak uz postojanje identične patogene varijante mogu imati različito vrijeme pojave simptoma bolesti, pojavu različitih tumora i različito tešku kliničku sliku. Kod obitelji kod kojih veći broj članova manifestira bolest u ranoj dobi, rizik može biti i do 80 %. S druge strane, u obiteljima s manjim brojem zahvaćenih članova i u sporadičnih bolesnika rizik se kreće od 40 do 60 %. Patogene varijante u genima *BRCA1* i *BRCA2* nasljeđuju se autosomno dominantno i velika većina oboljelih naslijedila ih je od roditelja. Zbog nepotpune penetrantnosti i varijabilne ekspresije, različitog životnog vijeka te smanjenja *a priori* rizika zbog profilaktičkih kirurških zahvata, rak nije prisutan ili dijagnosticiran kod svih roditelja oboljelih osoba. Kao što je uvedeno rečeno, potrebno je iz opće populacije izdvojiti rizične skupine kod kojih je indicirano napraviti analizu.

Kad je otkrivena patogena varijanta koja se nasljeđuje u obitelji mogu se testirati rizični članovi obitelji te identificirati sve osobe koje trebaju pojačan nadzor i

ranu intervenciju u slučaju pojave karcinoma. Naravno, moguća je i prenatalna dijagnoza ukoliko je poznata patogena varijanta koja se prenosi u obitelji, no takvi zahtjevi izuzetno su rijetki. Kako postoji izražena varijabilnost ekspresije unutar iste obitelji, nije moguće predvidjeti kliničko očitovanje u slučaju da plod nosi patogenu varijantu.

Uz sve navedeno, kod nositelja patogene varijante u genu *BRCA2* preporuča se klinički pregled kože i očiju jednom godišnje. U visoko rizičnim obiteljima može se donijeti odluka o prevenciji pojave očitovanja tumora tako da se napravi profilaktična mastektomija i/ili ooforektomija i kemoprofilaksa tamoksifenom. Ipak, važno je naglasiti da ni jedna od zasad raspoloživih tehnika ne može jamčiti identifikaciju svih patogenih alelnih varijanti gena *BRCA1* ili *BRCA2*. Naravno, uz njih, konstantno se otkrivanju i druge varijante nepoznatog kliničkog značenja.

#### **4. Klinički značaj patogenih mutacija u tumorima debelog crijeva**

Karcinom debelog crijeva trenutačno je najčešća maligna bolest u Republici Hrvatskoj i drugi najčešći uzrok smrti od raka pri čemu godišnje umre više od 2000 oboljelih. Nasljedne forme te vrste raka najčešće su se vezivale uz mutacije gena *APC* za *APC*- pridružena polipozna stanja; familijarna adenomatozna polipoza (FAP), atenuirani FAP, adenokarcinom želuca i proksimalna polipoza želuca (GAPPS). Riječ je o bolesti koja se nasljeđuje autosomno dominantno s visokim rizikom prijenosa od 50 % u iduću generaciju. Genetsko testiranje proaktivnim testom omogućuje određivanje patogenih mutacija kod oboljele osobe, ali i kod članova obitelji pod rizikom. Kod osoba s nađenim patogenim mutacijama neophodne su redovite kolono/gastroskopije od djetinjstva i tinejdžerske dobi te u određenim slučajevima i operativno odstranjenje crijeva. U slučaju da se kod člana obitelji ne nađu patogene mutacije izbjegnuta je potreba za provođenjem tih invazivnih ispitivanja.

U novije vrijeme, zahvaljujući razvoju proaktivnih genetičkih testova (*Invitae*) koji simultano analiziraju velik broj gena, moguće je ustanoviti i patogene mutacije u drugim genima (*MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *MUTYH*, *AXIN2*, *BMPR1A*, *GREM1*) koji nisu povezani s prethodnim razvojem polipa te na taj način identificirati osobe pod rizikom.

Testiranje proaktivnim genetičkim testom omogućuje otkrivanje patogenih mutacija i za pojedine nasljedne metaboličke bolesti poput Wilsonove bolesti, nasljedne hemokromatoze, hipokalemijske periodične paralize, manjka alfa 1 antitripsina. Budući da se patogene mutacije navedenih bolesti prenose u sljedećim generacijama u visokom postotku, njihovo poznavanje je važno i za potomstvo pacijenta.

## 5. Farmakogenetsko testiranje

Farmakogenetika je novija grana farmakoloških znanosti koja proučava vezu između genetičke predispozicije nekog pojedinca i njegove sposobnosti metaboliziranja nekog lijeka ili stranog spoja. Ona pomaže razumijevanju zašto neke osobe odgovaraju na lijekove, a druge ne, zašto neke osobe trebaju više ili niže doze za postizanje optimalnoga terapijskog odgovora, a može upozoriti i na pacijente koji neće odgovoriti na terapiju, odnosno, na one u kojih se mogu pojaviti toksične nuspojave. Za razliku od farmakogenetike, koja se najčešće bavi utjecajem pojedinačnih polimorfizama na interindividualne varijacije u odgovoru na lijekove, širi pojam – farmakogenomika obuhvaća i razine međudjelovanja više gena (ili cijeloga genoma). Podaci za Europu pokazuju da se 7 do 13 % pacijenata prima u bolnicu zbog neželjenih reakcija na lijekove, a njih 30 do 50 % ne odgovara na terapiju. S druge strane, podaci koje je iznio vodeći američki medicinski časopis JAMA uznemirili su javnost, jer navode da godišnje samo u SAD-u više od 2 milijuna hospitaliziranih bolesnika nakon uzimanja lijekova imaju ozbiljne štetne popratne pojave, dok njih više od 100 000 zbog toga i umre.

Genski polimorfizmi određuju interindividualne razlike u metaboličkom i transportnom kapacitetu nekog lijeka, ali važno je imati na pameti da varijabilnosti unutar HLA sustava isto tako mogu biti, prvenstveno zbog imunskih reakcija (poput raznih kožnih reakcija) razlogom nastanka nuspojava. Osim toga genetski polimorfizmi mogu imati iznimno važnu ulogu u interakcijama lijekova. Isto tako važno je imati na umu da niz epigenetičkih ili okolišnih čimbenika može igrati važnu ulogu tijekom metaboliziranja lijeka. Propisivanje lijekova sukladno genskom profilu pojedinca znatno smanjuje vjerojatnost popratnih pojava istodobno smanjujući i vjerojatnost predoziranja u odnosu na tipičnu situaciju gdje se lijek propisuje sukladno bolesnikovoj tjelesnoj težini i starosti. Stoga, farmakogenetika ima ključnu ulogu u izboru najboljeg mogućeg lijeka kao i njegove doze, istodobno umanjujući rizik popratnih pojava, predoziranja i nepovoljnih posljedica interakcije lijekova. Na ovaj način omogućene su i značajne uštede koje bi nastale zbog neadekvatne primjene lijekova i razvoja toksičnih nuspojava.

### *5.1.1. Suradnja OneOme s peen of tvrke Mayo Clinic i Specijalne bolnice Sv. Katarina u razvoju farmakogenomike*

Vrijednost navedenog sustava leži u činjenici da se genetička analiza radi iz brisa sluznice usne šupljine koja sadrži dovoljan broj stanica iz kojih će se izdvojiti i analizirati DNA, a metoda je u potpunosti jednostavna i bezbolna. Radi se samo jednom u životu jer genska struktura se ne mijenja kod pacijenta tijekom njegova života. Činjenica je da je ovaj do sada najsvobuhvatniji farmakogenomski test (analizira 27 gena i 111 pripadajućih polimorfizama odgovornih za metabolizam više od 350 lijekova) postao realnost u kliničkoj praksi. Prednost u radu s ovim testom je što je za njega razvijen

i poseban program umjetne inteligencije koji omogućuje liječniku pregledan prikaz povezanosti specifičnih mutacija s učinkom na svaki pojedinačni lijek. Isto tako, u slučaju ako se u budućnosti otkrije neki novi lijek, a imamo pohranjenu DNA od pacijenta, ne trebamo ponavljati uzimanje uzorka već sve možemo napraviti iz postojećeg uzorka. Osim testiranja genetskih polimorfizama enzima i drugih proteina, ovaj test je poseban jer testira i dva iznimno značajna gena: Faktor V (Leiden) i Faktor II (protrombin) koji su odgovorni za povećan rizik zgrušavanja krvi te povećan rizik od nastanka tromboembolija. Nekoliko (7-8 dana) nakon uzimanja uzorka pacijent se poziva u Specijalnu bolnicu Sv. Katarina i tada mu se predoče molekularni rezultati i radi interpretacija testa (utvrđuje se genotip). Istodobno liječnik informira pacijenta o kliničkom značenju dobivenog nalaza te sukladno tome ukidaju lijekovi koji su za dotičnog pacijenta *štetni ili ako je to potrebno uvode se novi lijekovi. U najvećem broju slučajeva preporuke liječnika se temelje na smjernicama Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* i imaju najvišu kliničku razinu dokaza 1A.

Tako dobiveni laboratorijski nalazi se prikazuju bilo kao genotip pacijenta koji ima značajan utjecaj na metabolizam ciljanog lijeka te se zbog toga utvrđuje povećan rizik od neželjenih reakcija lijekova ili gubitak terapijske učinkovitosti lijeka ili genotip pacijenta koji ima umjeren utjecaj na metabolizam ciljanog lijeka te se zbog toga utvrđuje povećan rizik od neželjenih reakcija lijekova ili gubitak terapijske učinkovitosti lijeka ili genotip pacijenta koji ima minimalni utjecaj na metabolizam ciljanog lijeka te se zbog toga ne postoji značajan rizik od neželjenih reakcija lijekova ili gubitak terapijske učinkovitosti lijeka.

### *5.1.2. Prevencija duboke venske tromboze pred i nakon operativnog zahvata*

Personalizirana medicina za cilj ima analizom genoma pravovremeno dijagnosticirati promjene koje će dovesti do bolesti ili kad se već bolest razvila liječiti je sukladno spoznajama dobivenim analizom istog tog genoma. Tako je i s prevencijom nastanka povećanog zgrušavanja krvi te posljedično duboke venske tromboze koja može u slučaju neliječenja dovesti do plućne embolije i smrtnog ishoda. Jedini način kako prevenirati ovakva stanja je utvrditi postojanje mutacije na genima odgovornim za koagulaciju te istodobno farmakogenomskim testiranjem utvrditi postojanje mutacija unutar gena odgovornih za metabolizam lijeka kojeg koristimo u prevenciji ili liječenju pojačanog zgrušavanja krvi.

Oko 5% osoba u Hrvatskoj ima nasljedno povećanu sklonost zgrušavanju krvi. Mogućnost nastanka tromboze raste s godinama starosti, a češća je nakon operativnih zahvata i povreda. Žene su skupina s najvećim rizikom, no poremećaj zahvaća oba spola i sve dobne skupine. Analizom DNA, moguće je utvrditi postojanje genske predispozicije za povećanu sklonost stvaranja ugruška, a analiziraju se geni koji sudjeluju u zgrušavanju krvi (Faktor V-Leiden, Protrombin, MTHFR, itd).



Jednostavnim rječnikom govoreći, u kliničkoj praksi bolnice Sv. Katarina, već danas je moguće prije operacije, (koja je već sama za sebe golemi stres) napraviti potrebnu genetičku analizu i prevenirati neželjene ishode (Ašić i Marjanović, 2018). Naime, duboka venska tromboza može dovesti do životno opasne plućne embolije, kao što je rečeno, prvenstveno zbog razvoja krvnog ugruška tromba koji je i doveo do embolije. Najčešći tip plućnog embolusa je krvni ugrušak, obično onaj koji nastane u vena-nama nogu ili zdjelice te krvotokom dospije u pluća.

Medikamentno liječenje (lijekovima) koji usporavaju zgrušavanje krvi (antikoagulansi) mogu pojavu duboke venske tromboze signifikantno smanjiti. Dodatan je problem što kod žena s postojanjem mutacija na npr. faktoru V ili II kumulativno raste šansa za obolijevanje od duboke venske tromboze, pogotovo ako žena uzima kontraceptivna sredstva. No da bi prevencija ili liječenje duboke venske tromboze bilo uspješno, prethodno je kako je ranije rečeno napraviti farmakogenetsko testiranje. Ipak, činjenica da neka osoba ima gensku predispoziciju ne znači da će se nužno razviti krvni ugrušak ili s njim povezano stanje (npr. spontani prekid trudnoće). Međutim, važno je napomenuti kako bi te osobe trebale izbjegavati faktore rizika koji u interakciji s genskom predispozicijom mogu biti okidač za nastanak krvnog ugruška.

Nasljedno povećana sklonost zgrušavanju (trombofilija) je jedan od uzroka rekurentnih spontanih pobačaja u općoj populaciji te je njeno rano otkrivanje važan dio algoritma obrade rekurentnih spontanih pobačaja.

### *5.1.3. Farmakogenomika i liječenje boli*

Kronična bol pogađa oko 20 % opće populacije u svijetu pri čemu značajno utječe na radnu sposobnost, kvalitetu života, generira visoke troškove liječenja, onespobobljuje pacijenta za svakodnevno funkcioniranje te posljedično dovodi do velikih ekonomskih opterećenja za zdravstveni i gospodarski sustav. Procjena je da kronična bol generira troškove od 560 do 635 milijuna američkih dolara u svijetu. Iako je napredak znanosti rasvijetlio pojedine mehanizme nastanka boli, njeno liječenje u praksi još je uvijek suočeno s nizom terapijskih nedoumica. Unatoč rasvjetljavanju patofizioloških mehanizama temelji liječenja kronične boli još se uvijek svode na primjenu nesteroidnih antireumatika, aspirina, acetaminofena, opioida. Nerijetko primjena tih lijekova ne dovodi do potpunog nestanka boli, a povezana je i s različitim toksičnim učincima na jetru, probavni trakt, bubrege, srce i centar za disanje. Slični učinci bilježe se i kod primjena lijekova za bol tzv. „druge linije”, poput antidepresiva i antikonvulziva. Važno je istaknuti da primjena svih tih lijekova kod oboljelih pokazuje značajne interindividualne razlike u učinku i eventualnom razvoju štetnih nuspojava. Objašnjenje za tu pojavu leži u različitom genetičkom profilu pacijenta koji je moguće definirati primjenom farmakogenomskih testova koji definiraju ne samo gene direktno uključene u metabolizam lijeka, već i gene koji moduliraju metaboličku aktivnost lijeka

(Bach-Rojecky i Vađunec, 2019). Imajući u vidu sve navedene terapijske nedoumice, Specijalna bolnica Sv. Katarina je u suradnji s korporacijom *OneOme* razvila farmakogenomski dijagnostički test (*Right Med*) u kojem se analiziraju geni i polimorfizmi koji utječu na mehanizam lijekova protiv boli. Taj koncept primjene analgetika baziran na genotipu zauzet će u perspektivi vodeće mjesto u kliničkoj praksi (Primorac i Bach-Rojecky, 2019).

Kronična bol uvjetovana je i različitim čimbenicima koji djeluju na gene za percepciju osjeta boli i epigenetičkim čimbenicima. Nedavne studije ukazale su i na razlike u obrascima glikozilacije proteina (koncentracije glikoma) u oboljelih od kronične križobolje i zdravih ispitanika (Freidini i Lauc, 2016). Promjene glikozilacije kod kronične križobolje slične su onima kod kroničnih upala. Kako bi se definirali ti patofiziološki obrasci i ustanovili potencijalni biomarkeri, EU je u sklopu FP7 programa financirala studiju PAIN-OMICS čiji je cilj otkriti i stratificirati pacijente s kroničnom križoboljom prema odgovarajućim markerima (omicsima) iz DNA i seruma oboljelih (Trbojević Akmačić i Vučković, 2018).

## **6. Aplikacija autolognih mezenhimalnih matičnih stanica u liječenju osteoartritisa**

Osteoartritis je degenerativna bolest koja zahvaća do 50 % populacije starije od 60 godina i predstavlja velik ekonomski teret za zdravstveni sustav. To je bolest u čijoj se podlozi nalazi oštećenje zglobne hrskavice zbog čijeg gubitka dolazi do preraspodjele opterećenja na druge hrskavične komponente koljena te značajnog trenja površinskih slojeva subhondralne kosti što u konačnici dovodi do disfunkcije zgloba. Mezenhimalne matične stanice (*Mesenchymal Stem Cells*, MSC) populacija su multipotentnih nehematopoetskih stanica koje potječu iz mezoderma i postoje u gotovo svim tkivima, uz potencijal diferencijacije u osteoblaste, hondroblaste, mioblaste, stromalne stanice, fibroblaste i adipocite. Pokazalo se da je kompleksna interakcija bioloških medijatora koje izlučuju matične stanice važna u reguliranju regeneracije raznih oštećenih ili oboljelih organa i tkiva u tijelu. Stanice za koje se smatra da imaju najvažniju ulogu u tom fiziološkom procesu jesu periciti, stanice prekursori mezenhimalnih matičnih stanica. Rezultati naše studije sugeriraju da liječenje osteoartritisa putem mezenhimalnih matičnih stanica, ali i drugih stanica stromalne vaskularne frakcije, prvenstveno djelovanjem bioaktivnih faktora koji djeluju imunomodulacijski, sprečava stvaranje ožiljkastog tkiva i smrt (apoptozu) stanica, potiče stvaranje novih krvnih žila i ima trofički (regenerativni) učinak, dovodi do posljedičnog porasta glikozaminoglikana (GAG) što je direktno povezano s kvalitetom hijaline hrskavice. U konačnici to rezultira i nizom klinički mjerljivih parametara u pacijenata (redukcija boli i povećanje opsega pokreta) (Hudetz i Borić, 2017).

## **7. Liječenje *osteogenesis imperfecte* – personalizirani pristup**

*Osteogenesis imperfecta* rijetka je nasljedna bolest vezivnoga tkiva čije je glavno obilježje pojačana sklonost razvoju fraktura kostiju i posljedično deformiteta i invaliditeta. Tradicionalno, kao glavni uzrok *osteogenesis imperfecte* smatrane su promjene u sintezi i strukturi molekule kolagena tip I. Napretkom molekularne medicine u zadnjih deset godina značajno je rasvijetljena genetička podloga bolesti pri čemu je definirano sveukupno 18 gena uključenih u njen razvoj. Heterogenost genetičke podloge, varijabilnost kliničke slike, različite mogućnosti liječenja i odgovora na terapiju zahtijevaju personalizirani pristup dijagnostici i liječenju oboljelih. U Specijalnoj bolnici Sv. Katarina provodi se suvremeno ortopedsko liječenje te rijetke bolesti korištenjem specijalno dizajniranih ortopedskih čavala (Fassier- Duval) koji smanjuju operativnu traumu kosti, pridonose smanjenju postoperativnih komplikacija i omogućuju ranu rehabilitaciju (Jeleč i Primorac, 2019).

## **8. *Glycan Age* test: usporedba biološke i kronološke starosti pojedinca**

Suradnjom Genosa i Specijalne bolnice Sv. Katarina odnedavno se u bolnici radi taj test koji je po prvi put u cijelom svijetu upravo pokrenut u Hrvatskoj. Test *GlycanAge* analizira razine glikana, složenih šećera koji moduliraju strukturu i funkciju proteina u imunološkom sustavu. Strukture se tih glikana, naime, mijenjaju sa starenjem, a određeni profili karakteristični su za određenu starost te se ovom metodologijom zapravo utvrđuje stvarna biološka dob pojedinca u odnosu na onu kalendarsku ili kronološku. Posebno je značajno što su znanstvenici Genosa i Specijalne bolnice Sv. Katarina proveli niz funkcionalnih studija koje su pokazale da glikani nisu samo biomarkeri, već i funkcionalni efektori koji pridonose razvoju niza bolesti, između ostalog i kardiovaskularnih bolesti. Stoga, glikani i službeno dobivaju važnu ulogu u razvoju cjelovita koncepta personalizirane medicine.

## Literatura

1. Ašić, A. et al. 2018. Pharmacogenetics of novel oral anticoagulants: a review of identified gene variants & future perspectives. *Per Med*, 15 (3): 209–221.
2. Bach-Rojecky, L. et al. 2019. Continuing war on pain: a personalized approach to the therapy with nonsteroidal anti-inflammatory drugs and opioids. *Per Med*, 16 (2): 171–184.
3. Freidin, M. B. et al. 2016. Using omics in chronic pain conditions to delineate mechanisms and provide new therapeutic strategies. *Pain Manag*, 6 (3): 211–215.
4. Hudetz, D. et al. 2017. The Effect of Intra-articular Injection of Autologous Microfragmented Fat Tissue on Proteoglycan Synthesis in Patients with Knee Osteoarthritis. *Genes (Basel)*, 13; 8 (10).
5. Jeleč, Ž. i Primorac, D. 2019. Personalized surgery approach in severe form of osteogenesis imperfecta type III: point of view. *J Pediatr Orthop B*, doi: 10.1097/BPB.0000000000000598.
6. Primorac, D. i Bach-Rojecky, L. 2019. Could a Personalized Approach to Therapy End the War on Pain? *Practical Pain Management*, 15: (3) 50–53.
7. Trbojević-Akmačić, I. et al. 2018. Plasma N-glycome composition associates with chronic low back pain. *Biochim Biophys Acta Gen*, 1862 (10): 2124–2133.



## Personalised medicine: The model of St. Catherine specialty hospital

### Abstract

Personalized medicine based on each patient's unique genetic makeup, is beginning to overcome the conventional medical practice. As opposed to conventional medical practice, personalized medicine approach identifies genetic, epigenomic, and clinical data predicting patient individual risks for disease development as well as response to various medical procedures and medication. Using personalized medicine concept, St Catherine Specialty Hospital in cooperation with company One Ome, uses proactive genetic testing for the detection of pathogenic gene mutations responsible for many chronic diseases; cancer, cardiovascular disease, metabolic disease in patients and persons at risk. Moreover, integrating genomic technologies with clinical and family history data, it is possible to design personalized treatment based on patient genomic architecture and clinical data. Pharmacogenomic testing (RightMed) enables prediction of drug response and clinical outcomes for hundreds of commonly prescribed medications. Gene therapy, stem cell application, regenerative medicine and glycan analysis also became integral part of personalized medicine.

Key words: Personalized medicine; St. Catherine specialty hospital; Pharmacogenomic testing; genetic testing