

# Farmakogenomika: značenje za medicinu u sljedećim desetljećima

---

**Topić, Elizabeta; Primorac, Dragan**

*Source / Izvornik:* **Zbornik sveučilišta Libertas, 2019, 4, 231 - 251**

**Journal article, Published version**

**Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:536570>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-29**



*Repository / Repozitorij:*

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



Elizabeta Topić\*  
Dragan Primorac\*\*

## FARMAKOGENOMIKA: ZNAČENJE ZA MEDICINU U SLJEDEĆIM DESETLJEĆIMA

### Sažetak

Bez sumnje je da budućnost medicine stremi ka vrhunskim metodama rane dijagnostike i individualno dizajniranom liječenju, stoga je Komisija EU 2016. među svoje ključne prioritete u zdravstvu uvrstila koncept personalizirane medicine i osnala Internacionalni konzorcij za personaliziranu medicinu (*International Consortium of Personalized Medicine, ICPerMed*), sa zadaćom da sinkronizira rad svih članica EU na standardiziranju dijagnostičkih i terapijskih postupaka vezanih uz personaliziranu medicinu u čijem radu sudjeluje i Republika Hrvatska. Ključna područja personalizirane medicine su identifikacija gena i molekularnih biljega povezanih s bolestima; farmakogenomika (procjena omjera koristi i rizika pri odabiru i doziranju pojedinih lijekova, predviđanje nuspojava) te procjena rizika za nastanak najčešćih bolesti moderne civilizacije i posljedično liječenje. Primjena rezultata farmakogenomike u konceptu personalizirane medicine ovisi o sposobnosti kliničkih laboratorija da kliničaru u pravom trenutku podastre precizne, točne, korisne informacije, koje bi omogućile propisivanje pravog lijeka u pravoj dozi za svakog pojedinog bolesnika. Ovaj pregled поближе će prikazati domete farmakogenomike koja predstavlja značajnu kariku u personaliziranoj medicini i omogućuje transformaciju medicine od reaktivne ka proaktivnoj medicini te predstaviti preporuke CIPC-a (*Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*) za testiranje odnosa gen/lijek 19 najčešćih lijekova koji se koriste u Hrvatskoj a u svrhu osiguranja odgovarajućeg liječenja.

Ključne riječi: personaliziran medicina, farmakogenomika, koncept gen/lijek, CIPC smjernice

### 1. Uvod

Da bi neki lijek ostvario terapijski učinak, potrebno je ostvariti niz preduvjeta. Nakon primjene lijeka i njegove moguće metaboličke aktivacije (biotransformacije), molekula

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

\*\* 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

lijeka treba doprijeti do ciljnog mjesta djelovanja, vezati se na ciljnu molekulu i izazvati specifično djelovanje. Na tom putu, lijek prolazi kroz stanične membrane, veže se za receptore, transporterima se prebacuje u pojedine stanične odjeljke, veže se na krajnje receptore i tek tada ispoljava farmakološku aktivnost. Lijekovi pritom prolaze cijeli ili samo dio tog puta, ovisno o njihovim svojstvima i mehanizmu djelovanja. Iz tog proizlazi kako promjene (polimorfizmi) na genima enzima uključenih u biotransformaciju, genima receptora, transportera, ionskih kanala i drugih – genima kodiranih proteina, važnih za djelovanje lijeka, mogu biti uzrokom neučinkovitosti i neželjenih reakcija liječenja, a time i zanimljivi farmakogenomici (Topić, 2018).

Farmakogenomika proučava vezu između genske predispozicije nekog pojedinca i njegove sposobnosti da metabolizira neki lijek ili strani spoj i 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 bolesnike koji neće odgovoriti na terapiju, odnosno, na one u kojih se mogu pojaviti toksične nuspojave. Farmakogenomika obuhvaća i razine međudjelovanja više gena ili cijeloga genoma (Topić, 2018). Podaci za Europu pokazuju da se 7 do 13 % bolesnika prima u bolnicu zbog neželjenih reakcija na lijekove, a u 30 – 50 % bolesnika izostaje terapijski odgovor. Djelovanje ili učinkovitost lijeka ovisi o nizu čimbenika: način života (pušenje, alkohol, prehrana), biološki (spol, dob, funkcija jetre i bubrega) i genski čimbenici. Upravo genske čimbenike proučava farmakogenomika istraživanjem utjecaja genskih polimorfizama enzima koji metaboliziraju lijekove, polimorfizama gena transportera, receptora i ciljnih molekula.

Na temelju sposobnosti metaboliziranja nekog lijeka genski se polimorfizam povezuje s nekoliko vrste metaboličkog fenotipa; fiziološki normalan ili brzi, odnosno snažni (engl. *extensive metabolizer*, EM), spor ili slab (engl. *poor metabolizer*, PM) te fenotip izrazito brzog ili snažno pojačanog metabolizma (engl. *ultra extensive metabolizer*, UEM). Fenotip ekstenzivnog metabolizatora odražava fiziološki normalnu biotransformaciju lijeka i njegovo djelovanje. Fenotip lošeg ili slabog metabolizatora zbog smanjene ili nepostojeće aktivnosti enzima ima za posljedicu nagomilavanja lijeka-supstrata u organizmu. To je tipično autosomno recesivno svojstvo nastalo mutacijom i/ili delecijom obaju alela odgovornih za fenotipsku ekspresiju. Fenotip izrazito jakog metabolizatora rezultira ubrzanom razgradnjom lijekova-supstrata, a izražen je kao autosomno dominantno svojstvo koje proizlazi iz amplifikacije gena (jednostruko ili višestruko umnažanje gena). Posljedica umnažanja gena je povišena aktivnost enzima i stoga povećana razgradnja i neučinkovitost lijeka. Uz te osnovne fenotipove čest je i prijelazni oblik s jednim funkcionalnim i drugim mutiranim alelom, tzv. intermedijarni metabolizator (engl. *intermediate metabolizer*, IM) (Mc Millin, 2015).

Genski polimorfizam transportera lijeka i receptora stvara osnovu za fenotip sa sporom i brzom apsorpcijom lijeka, odnosno lošu ili učinkovitu interakciju s recep-

torima. Uslijed polimorfizama i kod transportera i receptora pojavljuju se tri vrste fenotipa: fenotip s normalnom, pojačanom i sniženom funkcijom. Na temelju rezultata farmakogenetičkog ispitivanja moguće je iz skupine bolesnika s istom dijagnozom izdvojiti one bolesnike koji trebaju veću ili manju dozu lijeka, odnosno, one koji trebaju neki drugi lijek s istim učinkom, a koji nije supstrat polimorfnog gena.

Primjena rezultata farmakogenomike u liječenju pacijenata i unapređenju koncepta personalizirane medicine neproporcionalna je dometu koji već danas farmakogenetika može pružiti. Stoga su se eminentni stručnjaci različitih profesija; liječnici, farmakolozi, genetičari, informatičari, medicinski biokemičari, specijalisti laboratorijske medicine organizirali i oformili radne skupine u raznim dijelovima svijeta, kako bi zajedničkim radom na sustavnom prikupljanju rezultata farmakogenetskih znanstvenih studija i njihovu obrađivanju meta-analizama pokušali iznjedruti značajnu korisnost odnosa gen/lijek te ih učiniti dostupnima kliničkoj praksi. Kraljni je cilj tih radnih skupina izrada smjernica odnosno preporuka, koje bi na osnovu podataka objavljenih u znanstvenoj literaturi i laboratorijskih rezultata farmakogenetskog testiranja pružili snažnu osnovu za primjenu pristupa gen/lijek u kliničkoj praksi i na taj način pomogli kliničarima u razumijevanju informacije dobivene genetskim testiranjem.

Klinički konzorcij za implementaciju farmakogenomike (*Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*, CPIC) osnovan 2009. u suradnji s opsežnom internetskom bazom podataka o genskim varijacijama i njihovom utjecaju na terapijski odgovor (*Pharmacogenomics Knowledge Base*, PharmGKB: <https://www.pharmgkb.org>) i internetskom mrežom farmakogenomskih istraživanja (*Pharmacogenomics Research Network*, PGRN: [www.pgrn.org](http://www.pgrn.org)), jedna je od značajnih radnih skupina koja radi na izradi farmakoških smjernica. Smjernice CPIC-a izdane su za sve važnije kombinacije gen/lijek za koje se preporuča farmakogenetsko testiranje i dostupne su na adresi <https://cpicpgx.org/genes-drugs/>. Razina značajnosti i objektivnosti u smjernicama prikazana je u nekoliko kategorija kliničke evidencijske razine (CPIC) i čvrstoće dokaza (PharmGKB) (Kelly, 2017). Kategorije proizlaze iz jasnih kriterija objave broja, kvalitete znanstvenih radova i veličine skupina ispitanika, obrađenih meta analizama koje su potvrdile značajnost farmakogenetskog testiranja sustava gen/lijek i kliničke korisnosti nakon provedenog testiranja. Prema kliničkoj evidencijskoj razini CPIC-a utemeljene su četiri kategorije preporuka: A, B, C i D.

Kategorija A – genetske informacije treba koristiti za promjenu propisivanja lijeka iz odnosa gen/lijek (alternativni lijek ili doza) sa snažnim ili umjerenim dokazima za promjenu.

Kategorija B – genetske informacije mogu se koristiti za promjenu propisivanja lijeka iz odnosa gen/lijek, međutim, sa slabijim i proturiječnim dokazima (alternativne terapije ili doziranja mogu biti jednako djelotvorne i sigurne kao i one koje se ne temelje na farmakogenetskim podacima).

Kategorije C i D odnosa gen/lijek nemaju dovoljno dokaza za farmakogenetsko testiranje stoga i ne postoje preporuke za promjene u propisivanju lijeka. Slijedi daljnje sakupljanje podataka.

Razine dokaza gen/lijek PharmGKB-a podijeljene su u šest kategorija: 1A, 1B, 2A, 2B, 3, 4 (Whirl-Carillo, 2012).

**1A** – najviša klinička evidencijska razina: prije početka terapije indicirano je tražiti genetsko testiranje, a nakon dobivenih rezultata postupiti prema smjernicama relevantnih izvora (PGx ili CPIC).

**1B** – klinička evidencijska razina: preporuča se gensko testiranje jer postoje klinički dokazi najmanje jedne kohortne studije sa statistički relevantnom značajnosti. Preporuka se može odnositi za sve ili samo pojedinu podskupinu bolesnika, a klinička korist testiranja je vjerojatna.

**2A** – klinička evidencijska razina: dostupne informacije istraživanja upućuju da se gensko testiranje ne smatra nužnim, ali informacija dobivena testiranjem može biti od značaja za učinkovitost liječenja, doziranje ili toksičnost u svih ili dijelu bolesnika.

**2B** – klinička evidencijska razina: dostupne informacije istraživanja upućuju na to da je polimorfan gen/protein uključen u metabolizam ili farmakodinamiku lijeka, no bez sugestije o mogućem utjecaju na terapijski odgovor.

**3 i 4** – kliničke evidencijska razina: dostupne informacije nedostatne su za izdavanje sugestije o farmakogenetskom testiranju.

Za ocjenjivanje kvalitete dokaza koristi se troslojna shema koja veže fenotipove povezane s lijekovima i određene genetske varijacije (Valdes, 2010; Topić, 2019):

**razina 1:** dokaz sadrži dosljedne rezultate dobro osmišljenih, dobro provedenih studija (CPIC A, PharmGKB 1A, 1B) – snažna preporuka

**razina 2:** dokaz je dovoljan za utvrđivanje učinaka, ali snaga dokaza ograničena je brojem, kvalitetom ili dosljednošću pojedinih studija, nemogućnošću generalizacije na rutinsku praksu ili posrednom prirodom dokaza (CPIC B; PharmGKB 2A, 2B) – umjerena preporuka

**razina 3:** dokazi nisu dovoljni za procjenu učinaka na ishode liječenja zbog ograničenog broja studija, nedovoljne moći studija, značajnih nedostataka u njihovom dizajnu ili načina na koji su provedeni, praznina u lancu dokaza ili nedostatak informacija (CPIC C i D; PharmGKB 3 i 4) – preporuka za primjenu je izborna.

Sve se smjernice CPIC-a pridržavaju standardnog formata i uključuju standardni sustav za ocjenjivanje razina dokaza koji povezuju genotip s fenotipom, dodjelu fenotipa kliničkom genotipu, preporuku propisivanja lijeka na temelju genotipa/fenotipa, te standardni sustav za određivanje snage svakom propisivanju preporuka. Do sada su objavljene smjernice CPIC-a za 23 odnosa gen/lijek s visokom kliničko evidencijskom razinom (A), čvrstim dokazima (A1) te snažnom preporukom (<https://cpicpgx.org/guidelines/>, 2019). Odnos gen/lijek je do sada napravljen za oko 350 lijekova raz-

vrstanih u navedene kategorije, no rezultati trenutno nemaju dovoljno podataka za snažnu preporuku farmakogenetskog testiranja prema CPIC-u (<https://cpicpgx.org/genes-drugs/>, 2019).

U tablici 1 prikazani su odnosi gen/lijek za 19 često konzumiranih lijekova u Hrvatskoj, polimorfni geni koji su odgovorni za pravilno djelovanje lijeka te kategorije preporuka CPIC-a odnosno PharmGKB.

**Tablica 1.** Preporuke CPIC-a za farmakogenetsko testiranje za 19 lijekova koji se koriste u svakodnevnoj kliničkoj praksi u RH (<https://cpicpgx.org/guidelines/>)

| Lijek          | Gen     | Aleli od interesa                                    | Snaga preporuke |          |
|----------------|---------|--|-----------------|----------|
|                |         |  | CPIC            | PharmGKB |
| Abakavir       | HLA-B   | HLA-B*57:01  | A               | 1A       |
| Alopurinol     | HLA-B   | HLA-B*58:01  | A               | 1A       |
| Amitriptilin   | CYP2C19 | CYP2C19*2; CYP2C19*3                                 | A               | 1A       |
|                | CYP2D6  | CYP2D6*3; CYP2D6*4                                   |                 |          |
| Azatioprin     | TPMT    | TPMT*2; TPMT*3A; TPMT*3B; TPMT*C;<br>TPMT*4          | A               | 1A       |
|                | *NUDT15 | NUDT15*2, NUDT15*3, NUDT15*9                         |                 |          |
| Fenitoin       | CYP2C9  | CYP2C9*2; CYP2C9*3                                   | A               | 1A       |
|                | HLA-B   | HLA-B*15:02  |                 |          |
| 5-fluorouracil | DPYD    | DPYD *2, DPYD *13, *9B                               | A               | 1A       |
| Kapicitabin    | DPYD    | DPYD *2, DPYD *13, *9B                               | A               | 1A       |
| Ivacaftor      | CFTR    | CFTR*G551D   | A               | 1A       |
| Karbamazepin   | HLA-A   | HLA-A*31:01  | A               | 1A       |
|                | HLA-B   | HLA-B*15:02, HLA-B*57:01, HLA-B*58:02,               |                 |          |
| Klopidogrel    | CYP2C19 | CYP2C19*2, CYP2C19*3                                 | A               | 1A       |
| Kodein         | CYP2D6  | CYP2D6*3, CYP2D6*4, CYP2D6*5,<br>CYP2D6*1 ili *2 x N | A               | 1A       |
| Merkaptopurin  | TPMT;   | TPMT*2; TPMT*3A; TPMT*3B; TPMT*C;<br>TPMT*4          | A               | 1A       |
|                | NUDT15  | NUDT15*2, NUDT15*3, NUDT15*9                         |                 |          |
| Ribavirin      | IFNL3   | IFNL3*C151T, IFNL3*C152T                             | A               | 1A       |
| Simvastatin    | SLCO1B1 | SLCO1B1*15, SLCO1B1*17                               | A               | 1A       |
| Tamoksifen     | CYP2D6  | CYP2D6*3, CYP2D6*4, CYP2D6*5,<br>CYP2D6*2x2          | A               | 1A       |
| Tiogvanin      | TPMT    | TPMT*2; TPMT*3A; TPMT*3B; TPMT*C;<br>TPMT*4          | A               | 1A       |
| Takrolimus     | CYP3A5  | CYP3A5*3   | A               | 1A       |
| Varfarin       | CYP2C9  | CYP2C9*2; CYP2C9*3                                   | A               | 1A       |
|                | WKORC1  | WKORC1*C1173T  |                 |          |
|                | CYP4F2  | CYP4F2*2   |                 |          |

Aleli koji su navedeni u tablici 1 jesu CIPC-om preporučeni aleli polimorfnih gena koje bi trebalo testirati u pacijenata najbolje prije početka terapije određenim lijekom, odnosno, u pacijenata u kojih se nakon kratkog vremena ne pokaže željeni rezultat. Budući da polimorfni geni, osim za lijek naveden u tablici sudjeluju u metabolizmu niza istovrsnih lijekova, za očekivati je, da bi u slučaju da je lijek supstrat istog enzima rezultat liječenja bio isti, stoga bi farmakogenetsko testiranje trebalo provesti za svaki lijek koji je supstrat polimorfnog gena. Međutim, važno je naglasiti kada se jednom farmakogenetsko testiranje provede, rezultati vrijede doživotno i mogu se primjeniti za ostale lijekove koji su supstrati dotičnog gena. Važniji internetski izvori s ažurnim podacima važnima za kliničku primjenu farmakogenomike prikazani su u tablici 2.

**Tablica 2.** Važniji internetski izvori s ažurnim podacima važnima za kliničku primjenu farmakogenomike

| Organizacija   | Opis   | Internet stranica  |
|--|--|--|
| Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CIPC)   | Smjernice za kliničku primjenu farmakogenetskog testiranja   | <a href="https://cpicpgx.org/guidelines/">https://cpicpgx.org/guidelines/</a>  |
| The Pharmacogenomics Knowledgebase (PharmGkb)                | Opsežna internetska baza podataka o dostupnim znanjima genske varijacije i njenom utjecaju na terapijski odgovor | <a href="https://www.pharmgkb.org">https://www.pharmgkb.org</a>  |
| Pharmacogenomic Research Network (PGRN)                      | Mreža farmakogenetskih istraživanja  | <a href="https://www.pgrn.org">https://www.pgrn.org</a>  |
| NCBI, National Center for Biotechnology Information/GenBank  | Najopsežnija baza podataka na temu bioinformatike s biomedicinskim i genetskim informacijama                     | <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov">http://www.ncbi.nlm.nih.gov</a><br><a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/</a> |
| SNPedia  | Baza podataka o poznatim polimorfizmima  | <a href="http://snpedia.com">http://snpedia.com</a>  |
| Warfarindosing   | Internet aplikacija za procjenu doziranja terapije varfarinom na osnovu farmakogenetskog testiranja              | <a href="http://www.warfarindosing.org">http://www.warfarindosing.org</a>  |
| The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database | Baza podataka o poznatim polimorfnim alelima CYP   | <a href="http://www.cypalleles.ki.se/">http://www.cypalleles.ki.se/</a>  |
| Drug Interactions Flockhart Table                            | Interakcije među lijekovima koji se metaboliziraju putem sustava CYP   | <a href="http://medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/main-table">http://medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/main-table</a>  |
| The International SNP Map Working Group                      | Međunarodna grupa za mapiranje SNP   | <a href="https://www.nature.com/articles/35057149">https://www.nature.com/articles/35057149</a>  |

## 2. Metode farmakogenetskog probiranja

Identifikacija genskih polimorfizama provodi se metodama molekularne dijagnostike, a odabir metode ovisi o cilju i željenoj rezoluciji rezultata koji se dijagnostikom želi postići. Za identifikaciju varijanata gena (alela) na razini jednostrukih polimorfizama (*Single nucleotide polymorphism*, SNP) najčešće se koristi metoda PCR (*Polymerase chain reaction*, PCR) i njegove varijante poput alel specifičnog umnažanja (*Allele specific oligonucleotides*, ASO), PCR u stvarnom vremenu (*Realtime PCR*), hibridizacija fluorescentno obilježenih DNA proba poznatog slijeda nukleotida tijekom umnažanja PCR (*Taqman*). Također su na raspolaganju metode PCR-a s naknadnom detekcijom polimorfizama poput gel elektroforeze i cijepanja DNA restriksijskim enzimima (*restriction fragment length polymorphism*, RFLP); razlučivanje jednostrukih konformacijskih polimorfizama (*Single-strand conformation polymorphism*, SSCP; *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*, DGGE); enzimatskog ili kemijskog cijepanja heterodupleksa agregata (*Cleavase*, *Resolvase*, *OsO4*). Danas su također u širokoj primjeni metode sekvenciranja bilo dijela gena (*exome sequencing*) ili cijelog gena od interesa. Skeniranja gena i određivanje polimorfničkih mjesta na genomu moguće je nekom od novijih metoda poput *MALDI-TOF* spektrometrija, *Microarray* i *DNA chip* tehnologija (Topić, 2018; Buckingham, 2019).

Kao uzorak za analizu najčešće se koristi puna krv uzeta s antikoagulansom K-EDTA, citratom ili ACD, dok su uzorci s heparinom neprihvatljivi, s obzirom na to da on inhibira reakciju PCR-a. Uzorak je na sobnoj temperaturi stabilan 8 sati, 7 dana u hladnjaku na 2 – 8°C, a godinu dana i više na -20°C.

Preporuka je da se rezultati molekularnih analiza izvještavaju interpretativnim nalazima koji osim što navode potvrđeni genotip i/ili kombinaciju alela, istovremeno liječniku daju i informaciju o kliničkom značaju dobivenog nalaza.

### 2.1. Tumačenje nalaza genotipizacije/fenotipizacije

Farmakogenetsko testiranje dizajnirano je tako da otkrije fenotip ili genetsku sekvencu koja je povezana s fenotipom. Međutim, i fenotipizacija i genotipizacija zahtijevaju kliničku procjenu odgovora na terapiju ili zamjenu za monitoriranje terapije (*therapeutic drug monitoring*, TDM), pa valja razmotriti njihove prednosti odnosno i nedostatke kako bi se izabrala najbolja strategija.

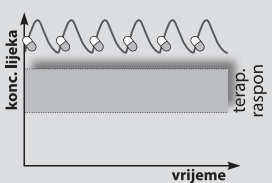
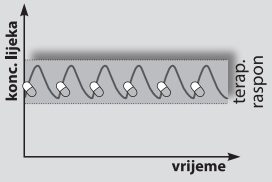
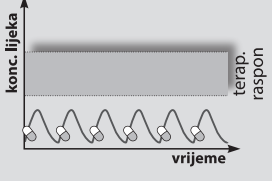
Polimorfizmi metaboličkih enzima izraženi su s četirima vrstama fenotipa. Fenotip EM osobina je zdrave populacije. Primjerice, osoba s dva normalna, aktivna CYP2D6 alela imat će normalni metabolički odgovor na lijek. S druge strane, fenotip IM, heterozigotni pojedinci s jednim aktivnim i jednim promijenjenim alelom ostvaruju metabolizam koji se neće jasno razlikovati od metabolizma u pojedinca s normalnim fenotipom, budući su polimorfizmi CYP2D6 recesivno svojstvo. Dosadašnja



su ispitivanja pokazala da se metabolički omjeri heterozigotnih osoba s dva ili više promijenjenih alela približavaju onima u osoba s homozigotno promijenjenim alelom. Tako fenotip PM pokazuju oni pojedinci koji su homozigotno ili heterozigotno naslijedili dva inaktivna alela. U njih se pokazuje potpuni nedostatak CYP2D6 aktivnosti i poremećena mogućnost metaboliziranja supstrata CYP2D6 te stoga nakupljanja određenog lijeka.

Fenotip UEM identificiran je do sada samo u heterozigotnih nosilaca varijante jednostruko ili višestruko amplificiranog gena i rezultira prekomjernom ekspresijom enzima CYP2D6. Ta prekomjerna ekspresija ima snažan učinak na metabolizam i eliminaciju supstrata CYP2D6 i dovodi do manjka lijeka pri standardnim dozama. Stoga, u osoba s fenotipom UEM mogu biti potrebne megadoze stanovitih lijekova (poglavito onih lijekova koji se metaboliziraju u neaktivne sastojke) kako bi terapija bila učinkovita (Topić, 2018). Funkcionalni polimorfizam CYP2D6, kliničke posljedice te moguće terapijske intervencije prikazane su na slici 1.

**Slika 1.** Funkcionalne posljedice polimorfizma CYP2D6 na lijekove, supstrate CYP2D6, njihov klinički učinak te moguće terapijske mjere. Modificirano prema Steimer i Potter (2002).

| mutacija   | funkcija CYP2D6                      | učinak na stabilnu koncentraciju (jednaka doza)                                     | klinički učinak  | moguće terapijske mjere  |
|--|--------------------------------------|---|--|--|
| >50 mutacija s oštećenim enzimima ili potpunom delecijom | smanjena ili potpuno odsutna<br>→ PM |   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• toksičnost</li> <li>• štetni učinak lijeka</li> </ul>                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>reducirana doza</b></li> <li>• <b>promjena lijeka – izbjegavanje supstrata CYP2D6</b></li> </ul>                   |
| homozigotni ili heterozigotni divlji tip                 | normalna<br>→ EM                     |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• željeni koncentracijski raspon</li> <li>• djelotvorna terapija</li> </ul> |  |
| dupliciranje ili umnažanje funkcionalnog gena            | pojačani metabolizam<br>→ UM         |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• nedjelotvorna terapija</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>megadoza – praćenje koncentracije</b></li> <li>• <b>promjena lijeka – izbjegavanje supstrata CYP2D6</b></li> </ul> |

### 3. Farmakogenomika enzima odgovornih za metabolizam / biotransformaciju lijekova

Najvažniji enzimi koji sudjeluju u biotransformaciji lijeka su enzimi superporodice citokroma P450 (CYP). Od najvećeg kliničkog značaja te dosad najbolje proučeni enzimi te superporodice su izoenzimi CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP1A2, CYP2E1, pa će u ovom pregledu oni biti podrobije opisani. Evaluacija puteva metabolizma velikog broja različitih lijekova pokazala je da se oko 50 % metabolizira pomoću CYP3A4, 20 % CYP2D6, 15 % CYP2C9 i CYP2C19, a ostatak s pomoću CYP2E1, CYP2A6, CYP1A2.

Iako većina tih izoenzima pokazuju genetski polimorfizam, samo su neki od njih značajni za učinkovitost lijekova. Promjene na genu mogu biti posljedica mutacija, delecija, insercija ili umnažanje gena, a najčešća je zamjena jedne baze drugom na istome mjestu u genu, tj. točkasta mutacija i označuje se kraticom SNP (engl. *single nucleotide polymorphism*, SNP). Aleli za sve gene CYP-a opisani su prema internacionalnom konzensusu nomenklature CYP450 (<http://www.cypalleles.ki.se/>, 2019). Ukratko, alel \*1 normalni je alel koji kodira protein s potpuno normalnom enzimskom aktivnosti u normalnoj količini. Svi aleli opisuju se zvjezdicom iza kojeg slijedi broj (ponekad i uz dodatno slovo koje opisuje podtip alela).

Općenito se smatra da na ljudskom genomu postoji oko 1,4 milijuna pojedinačnih varijacija, odnosno zamjena, da se jedna varijacija događa na svakih 1800 nukleotida, a pojam polimorfizam odnosi se na frekvenciju varijacija u populaciji koja je veća od 1 %.

#### 3.1. CYP2D6

Enzim CYP2D6 je odgovoran za metabolizam niza antidepresiva, neuroleptika, antiaritmika i blokatora  $\beta$ -adrenergičkih receptora te sudjeluje u metabolizmu endogenih supstrata koji su u funkciji središnjeg živčanog sustava. Glavni genski polimorfizmi CYP2D6 udruženi s fenotipom sporog metabolizatora (PM) dovode do potpunoga nedostatka funkcionalnoga proteina. Dosad je opisano više od 60 nultih (potpuno nefunkcionalnih) alela od kojih su najčešći i stoga dijagnostički najvažniji: \*3, \*4, \*5 te dodatne dvije varijante koje kodiraju proteinske produkte sa smanjenom katalitičkom aktivnošću: aleli \*17 i \*41, koji su obično udruženi s IM fenotipom. Među fenotipima PM najčešći je alel \*4 (70 %), zatim alel \*5 (26 %), te alel \*3 (3 %). Fenotip UEM rezultira iz dupliciranja ili višestruka umnožavanja alela CYP2D6 (CYP2D6\*1 i CYP2D6\*2), što rezultira prekomjernom ekspresijom enzima CYP2D6. Produkt amplificiranoga gena ima funkcionalno istu, ali katalitički povećanu aktivnost (Topić, 2018).

### 3.1.1. Farmakogenetički profil CYP2D6

Na temelju većine ispitivanja, u bolesnika na terapiji s lijekovima koji su supstratom za enzim CYP2D6 preporučuje se probiranje na fenotip UEM s pomoću alela CYP2D6\*2x2, koji ima 99 %-tnu osjetljivost, te na fenotip PM s pomoću alela \*3, \*4 i \*5. Farmakogenetičko testiranje alela \*3, \*4 i \*5 ima 75% osjetljivost u otkrivanju fenotipa lošeg metabolizatora (PM). Preporuka je da se osobe koje su heterozigotne za te alele genotipiziraju i na ostale alele, čime se postiže 99 %-tna osjetljivost.

Prema smjernicama CPIC-a i ocjenom najviše kliničke evidencijske razine (A i 1A), preporuka je da se u pacijentica u predmenopauzi i postmenopauzi na terapiji karcinoma dojke tamoksifenom odredi farmakogenetski fenotip (Goetz, 2018). U osoba s nalazom intermedijarnog metabolizatora (IM) valja razmotriti promjenu lijeka, dok se u bolesnica s fenotipom sporih metabolizatora (PM) preporuča promijeniti lijek.

Antidepresiv amitriptilin, koji se često koristi i u liječenju neuropske boli, biotransformira se u aktivni oblik pomoću čak dva polimorfna enzima CYP-a (CYP2D6 i CYP2C19). U bolesnika s fenotipom intermedijarnom metabolizatora (IM) CYP2D6 enzima smjernice CPIC-a (A, 1A) sugeriraju smanjenje početne doza za 25 %, dok se u bolesnika s fenotipom lošeg metabolizatora (PM) ne preporučuje liječenje amitriptilinom, već se sugerira primjena lijeka s drugim putevima biotransformacije (Spina 2015).

Bolesnici, loši metabolizatori na terapiji antidepresivom paroksetinom, također supstratom CYP2D6 imaju povećan rizik od razvoja nuspojava zbog viših koncentracija paroksetina u plazmi. Preporuka CPIC-a (A, 1A) je odabrati alternativni antidepresiv koji se znatnije ne metabolizira putem CYP2D6. Ako je nužno primijeniti paroksetin, preporuka je sniziti početnu dozu za 50 % i pratiti učinak.

U pacijenata intermedijarnih metabolizatora (IM) na terapiji tricikličkim antidepresivima (TCA) preporuka je sniziti uobičajenu početnu dozu za 25 %, a u slučaju loših metabolizatora preporučljivo je odabrati alternativni lijek koji nije supstrat CYP2D6. Ako se TCA iz nekih razloga ipak primjenjuju, nužno je sniziti dozu 50 % i pratiti terapijske koncentracije lijeka (TDM). Za vrlo brze metabolizatore (UEM) nosioce CYP2D6\*1xN ili CYP2D6\*2x2 alela, zbog moguće neučinkovitosti uslijed presnažnog metabolizma lijeka, također je preporučljivo odabrati alternativni lijek ili ako se ipak primjenjuju TCA, potrebne su više doze lijeka uz obavezno praćenje njegove koncentracije (TDM).

## 3.2. CYP2C19

Enzim CYP2C19 je odgovoran za metabolizam niza lijekova iz skupina antikonvulziva, blokatora protonske pumpe, psihofarmaka te nekih ostalih, poput klopidogrela, progvanila, propranolola, ritonavira i tobutamida. Specifične mutacije gena koji ko-

dira CYP2C19, alel \*2 i \*3 dovode do homozigotnih i heterozigotnih genotipa, koji se nasljeđuju autosomno recesivno.

Do sada identificirani genski polimorfizmi CYP2C19 uglavnom su posljedice točkastih mutacija. Najčešća genska inačica udružena s fenotipom lošeg metabolizatora (PM) jest alel \*2 (75% nultih alela CYP2C19 u bijelaca, fenotipa loših metabolizatora), a zatim alel \*3. Kombinirana učestalost alela \*2 i \*3 pojavljuje se otprilike u 95% bijelaca, dok su aleli \*4, \*5 i \*6, odgovorni za fenotip lošeg metabolizatora (PM) u prethodno identificiranih heterozigotnih nosioca \*2 ili \*3 alela. Polimorfni alel CYP2C19\*17 je odgovoran za pojačanu aktivnost enzima te je njegov genotip moguće povezati s UEM fenotipom. Osjetljivost metode u otkrivanju fenotipova slabog metabolizatora (PM) kreće se od 65 do 99 % u bijelaca, dok je u azijata veća od 99 % (Topić, 2018)

### 3.2.1. Farmakogenetički profil CYP2C19

Strategija otkrivanja fenotipa lošeg/slabog metabolizatora (PM) za lijekove supstrate CYP2C19 uključuje određivanje genotipa za najčešće alele, \*2 i \*3. Kako se danas smatra da se fenotip lošeg metabolizatora pojavljuje onda kad su zahvaćena oba alela, preporuka je da se prigodom početnog probiranja obuhvate aleli \*2, \*3 i \*17, dok se heterozigotne osobe mogu dodatno testirati na alele \*4, \*5 i \*6. Učestalost loših metabolizatora kreće od 2 – 15 % a intermedijarnih metabolizatora od 18 – 45 % i u europskoj i sjevernoameričkoj populaciji. Testiranje na alel CYP2C19\*17 važno je napraviti u pacijenata na antiagregacijskom lijeku klopidozolu jer u tih bolesnika učinak klopidogrela može biti pojačan, a time i povećan rizik krvarenja. Prema smjernicama CPIC-a (A i 1A) preporuča se promjena lijeka u bolesnika na liječenju klopidogrelom s fenotipom IM.

Također je prema stupnju dokaza i razini kliničke evidencije CPIC-a (A i 1A) u bolesnika fenotipa PM koji su na terapiji amitriptilnom, preporuka je reducirati početnu dozu za 50 %, dok se u bolesnika fenotipa UEM, terapija amitriptilnom ne preporučuje, već je potrebno odrediti zamjensku terapiju.

Sertalin, koji se primjenjuje u liječenju opsesivno-kompulzivnih poremećaja te u liječenju depresije također je supstrat CYP2C19. U slučaju sporih metabolizatora preporuka je CPIC-a sniziti početnu dozu 50 % ili odabrati alternativni lijek koji se pretežno ne metabolizira putem CYP2C19. Vorikonazol, triazolni antimikotik širokog spektra, također je supstrat CYP2C19. U pacijenata koji su nositelji barem jednog alela visoke aktivnosti CYP2C19\*17 preporuka CPIC-a je odabrati alternativni lijek manje ovisan o metabolizmu putem CYP2C19. Takva sredstva uključuju isavuconazol, liposomski amfotericin B i posakonazol. Ako je vorikonazol nužno primijeniti u sporih metabolizatora, treba dati niže doze od preporučenih uz terapijsko praćenje njegove koncentracija (TDM).

### 3.3. CYP2C9

Enzim CYP2C9 uključen je u oksidativni metabolizam brojnih lijekova iz skupina antikonvulziva, antidijabetika, antikoagulantna, antiepileptika, nesteroidnih antireumatika, antimikrobnih lijekova, te blokatora receptora za angiotenzin II, uključujući tolbutamid, fenitoin, losartan, S-varfarin i nesteroidne protuupalne lijekove. Do sada identificirani aleli CYP2C9 posljedica su točkastih nukleotidnih mutacija. S obzirom na ekspresiju proteina i enzimsku aktivnost uz alel divljeg tipa (CYP2C9\*1) opisane su i dvije važnije alelne varijante, \*2 i \*3, koje kodiraju proteine s aktivnošću od samo 5 do 12 %. Do sada nije opisana mutacija koja dovodi do fenotipa UEM (Topić, 2018).

#### 3.3.1. Farmakogenetički profil CYP2C9

Budući da su aleli CYP2C9\*2 i CYP2C9\*3 identificirani u 8 – 19 % bijelaca i u 6 –7,4 % crnačke populacije, a alel 3\* samo u azijata, a farmakogenetički profil u bijelaca i crnaca treba uključiti oba alela, a u azijata samo alel \*3. Fenotip slabog metabolizma pokazuju heterozigotni i homozigotni nosioci oba varijantna alela. Za tolbutamid, oralni hipoglikemijski lijek obitelji sulfonilureje, koji se koristi u liječenju šećerne bolesti tipa 2, postoje vrlo dobro dokumentirani dokazi o povezanosti polimorfizma CYP2C9 i učinka tolbutamida na snižavanje glukoze koje zahtijevaju pažljivo praćenje hipoglikemijskog učinka tolbutamida (ali i glibenklamida) u heterozigotnih i homozigotnih nosioca CYP2C9\*3 (Topić, 2014). Što više, postoje preporuke da se homozigotnim nosiocima alela \*3 smanji doza i do 50 % a heterozigotnim za 20 % u odnosu na standardnu dozu, čime bi se znatno smanjile nuspojave i toksični učinak lijeka.

Polimorfizam CYP2C9 može značajno utjecati na toksičnost lijekova s uskom terapijskom širinom poput varfarina ili fenitoina. Fenitoin, koji se primjenjuje u liječenju epilepsije ima vrlo malu terapijsku širinu, metabolizira se u jetri i također je supstrat CYP2C9. Rezultati mnogih studija su pokazali da postoji značajna povezanost polimorfizma CYP2C9 i maksimalne doze lijeka. Kasnije studije su pokazale da je alel HLA-B\*15:02 također je povezan s nuspojavama na koži, poput Stevens – Johnson sindroma (SJS) i toksične epidermalne nekrolize (TEN) u pacijenata na terapiji fenitoinom. Prema stupnju dokaza CPIC-a i PharmGKB (A i 1A) potvrđena je najviša klinička razina važnosti testiranja polimorfizma CYP2C9 i HLA-B\*15:02 prije početka terapije fenitoinom. Za osobe s fenotipom intermedijarnog metabolizatora (IM) CYP2C9 preporuka je smanjenje početne doze za 25 %, a u pacijenata s fenotipom lošeg metabolizatora (PM) preporuka je početnu dozu fenitoina smanjiti za 50 % u odnosu na standardnu dozu.

U liječenju antikoagulantnim lijekovima interindividualna varijabilnost djelomično se može objasniti genetskim polimorfizmom gena CYP2C9 ali i gena VKORC1 koji sudjeluju u metaboličkom ciklusu vitamina K. Nosioci kombinacije polimorfizma CYP2C9 i VKORC1 imaju povećan rizik od izraženog antikoagulacijskog učin-

ka u usporedbi s osobama koje nisu nosioci polimorfizama ili imaju samo jedan polimorfizam. Kod određivanja doze varfarina u čijoj biotransformaciji važnu ulogu igraju oba polimorfna enzima najbolji način za procjenu stabilne doze varfarina jest rabiti algoritme dostupne na <http://www.warfarindosing.org>. U smjernicama CPIC-a uz enzime CYP2C9 i VKORC1 uključen je i enzim CYP4F2. Neke studije su pokazale povezanost alela CYP4F2\*2 s uspjehom terapije varfarinom, no frekvencija tog alela u populacije je višestruko manja od 1 %.

### 3.4. CYP3A

Enzimi obitelji CYP3A, CYP3A4 i CYP3A5 uključeni su u oksidativni metabolizam brojnih lijekova iz skupina analgetika, antiaritmika, antikonvulziva, antihistaminika, antilipemika, antimikrobnih i antitumorskih lijekova, blokatora kalcijevih kanala, steroida, imunosupresiva, narkotika, te lijekova kao cimetidin, deksametazon, enalapril, lidokain, paracetamol, salmeterol. Do sada identificirani alel CYP3A4\*1B nalazi se u nekodirajućoj promotorskoj regiji gena CYP3A4, povezan je s pojačanom aktivnošću enzima CYP3A4. Točkasta mutacija na CYP3A5, A6986G kodira nefunkcionalni alel CYP3A5\*3 s posljedicom stvaranja krnjeg proteina bez enzimske aktivnosti. Oba polimorfizma u porodici CYP3A čine se značajnim za imunosupresivne lijekove koji imaju uzak terapijski raspon i pokazuju veliku interindividualnu varijabilnost u učinkovitosti i toksičnosti (Topić, 2018).

#### 3.4.1. Farmakogenetički profil CYP3A5

Veliki je broj istraživanja pokazao utjecaj genotipa CYP3A5 na doziranje i klirens često korištenih imunosupresiva poput takrolimusa, ciklosporina i sirolimusa u bolesnika s transplantiranim organima, te da genotip CYP3A5 može objasniti približno 35 % varijacija u koncentracijama takrolimusa kod transplantiranih pacijenata. Oko 10 % bjelačke populacije („ekspresori”) ima izražen enzim CYP3A5\*1, i ti pacijenti trebaju više doze takrolimusa u odnosu na tzv. „nonekspresore”, nosioce alela CYP3A5\*3. Suprotno ostalim CYP enzimima, gdje se homozigotni i heterozigotni nosioci alela CYP3A5\*1/\*1 i CYP3A5\*1/\*3 klasificiraju kao brzometabolizirajući fenotip (EM) odnosno intermedijarni metabolizatori (IM), u slučaju CYP3A5 i takrolimusa, ti pacijenti zahtijevaju višu početnu dozu takrolimusa u odnosu na fenotip sporog metabolizatora CYP3A5\*3/\*3 koji trebaju standardnu preporučenu dozu. Za ekspresore CYP3A5, homozigotne ili heterozigone nosioce CYP3A5\*1, preporučljivo je povisiti početnu preporučenu dozu 1,5 – 2 puta (ne preko 0,3 mg/kg/dan) te terapijski pratiti koncentracije lijeka (TDM) za daljnju prilagodbu doze. Prema smjernicama CPIC-a, s ocjenom najviše kliničke evidencijske razine (A) i stupnja PharmGKB dokaza (1A) bolesnike na imunosupresivnom liječenju takrolimusom treba farmakogenetsko testirati na točkastu mutaciju CYP3A5\*3, prije početka terapije.

Ova preporuka uključuje primjenu takrolimusa u bolesnika s transplantacijom matičnih stanica bubrega, srca, pluća i krvotvornih matičnih stanica i bolesnika s transplantacijom jetre u kojima su genotipovi donora i primatelja identični.

### 3.5. Tiopurin-metiltransferaza (TPMT)

Enzim TPMT katalizira S-metilaciju aromatskih i heterocikličnih sulfhidrilnih lijekova, koji imaju citotoksična i imunosupresivna svojstva, a rabe se u liječenju akutne limfoblastične leukemije, reumatoidnog artritisa, pri transplantaciji organa, autoimunskih i upalnih bolesti. S-metilacija tih lijekova glavna je faza u njihovoj biotransformaciji kojom se kontrolira citotoksičnost u hematopoetičkim tkivima. Najmanje devet nefunkcionalnih alela TPMT povezano je s nasljeđivanjem niske enzimске aktivnosti. Najčešći aleli su aleli \*3A i \*3B, potom alel \*2 koji kodiraju proteine s gotovo nemjerljivom aktivnošću. Razlika između alela \*3A i \*3B je broj točkastih mutacija. Navedene mutacije odgovorne su za 80 – 90 % niske aktivnosti TPMT (Topić 2018).

#### 3.5.1. Farmakogenetički profil TPMT

U bolesnika s nedostatkom TPMT stvara se više aktivnih nukleotida tiogvanina, koji se nakupljaju i dovode do potencijalno smrtonosne hematopoetske toksičnosti pri liječenju standardnim dozama tiopurina. Bolesnici koji imaju srednju aktivnost TPMT nakupljaju otprilike 50 % više nukleotida tiogvanina i time imaju povećan rizik hematopoetske toksičnosti.

Pristup genetičkoga probiranja zasnovan je na identifikaciji alela TPMT\*2, \*3A, \*3B, \*3C i \*4, koji su pokazali osjetljivost za prepoznavanje fenotipa lošeg metabolizatra (PM) veću od 95%. Prema smjernicama CPIC-a (A) i ocjenom najviše kliničke evidencijske razine PharmGKB (1A), bolesnici na terapiji azatioprinom, a koji su heterozigoti s rizičnim varijantama gena TPMT, početna doza trebala bi iznositi 30 – 70% normalne doze lijeka. U heterozigotnih varijanta recipročno/translokacijskog genotipa ili homozigota preporučena je promjena lijeka ili drastično reducirana doza (10-struko reducirana, isključivo do 3 dana/tjedno). Ista preporuka odnosi se i na bolesnike koji su predviđeni za liječenje s 6-merkaptopurinom ili 6-tiogvaninom.

### 3.6. Dihidropirimidin dehidrogenaza (DPYD)

DPYD igra glavnu ulogu u razgradnji protutumorskih lijekova poput 5-fluorouracila i kapecitabina (CAP), koji se pomoću DPYD inaktiviraju hepatičkim putem. Dio populacije (< 5 %) ima deficijentan taj enzim te je kod njih značajno povišen rizik toksičnog i potencijalno letalnog djelovanja 5-fluorouracila i kapecitabina.

### 3.6.1. Farmakogenetički profil DPYD

Pronađeno je više od 50 mutacija na *DPYD* genu, a najčešći mutantni aleli su *DPYD*\*2, *DPYD*\*13 i *DPYD*\*9B. Mutacije *DPYD* gena rezultiraju neaktivnim ili smanjenom aktivnosti enzima koja je povezana s povećanim rizikom teške ili fatalne toksičnosti u osoba na standardnoj dozi 5-fluorouracila, kapecitabina ili tegafura. Homozigotni ili heterozigotni nosioci mutiranih varijanti imaju povećan rizik za 5-fluoroacilom izazvanu toksičnost. Prema preporuci CPIC-a i ocjenom najviše kliničke evidencijske razine dokaza PharmGKB (A i 1A), heterozigotnim nosiocima rizičnih varijanti (aleli \*2,\*13 i \*9B) potrebno je reducirati standardnu početnu dozu za 50 %, dok je za nosioce rizične varijante (recipročni/translokacijski aleli) protrebno započeti terapiju zamjenskim lijekom.

## 3.7. Vitamin K epoksid reduktaza – podjedinica 1 (VKORC 1)

Vitamin K epoksid reduktaza, kojeg kodira gen *VKORC1* ključni je enzim u ciklusu vitamina K. *VKORC1* pretvara neaktivni vitamin K epoksid u biološki aktivni oblik koji katalizira stvaranje faktora zgrušavanja II, VII i IX. Više od 30 varijanti alela tog gena povezano je s faktorima zgrušavanja ovisnima o vitaminu K, te povećanom rezistencijom ili osjetljivošću na varfarin. Za oralne antikoagulanse ciljno mjesto djelovanja je upravo podjedinica 1 *VKORC*. Kumarinski antikoagulansi djeluju tako da inhibiraju aktivnost *VKORC1*. Polimorfizmi gena *VKORC1* značajno pridonose varijabilnosti terapijskog odgovora na kumarinske preparate.

### 3.7.1. Farmakogenetički profil VKORC 1

Za identificiranje haplotipova *VKORC1* u kliničkoj se praksi obično genotipiziraju dvije pojedinačne mutacije; alel -1639G>A i alel 1173C>T. Alel -1639G je prisutan u haplotipovima *VKORC1*\*1, \*3 i \*4 i i povezuje se s normalnom dozom varfarina. Alel -1639A je prisutan haplotipu *VKORC1*\*2 i čini veću osjetljivost za varfarin, te potrebu za nižom dozom lijeka.

Prema podacima iz farmakogenetičkih studija o povezanosti CYP2C9 i *VKORC1*, zabilježeno je nekoliko klinički značajnijih posljedica na farmakokinetiku-farmakodinamiku oralnih antikoagulansa. Heterozigotni nositelji polimorfizma *VKORC1* u kombinaciji s polimorfizmom CYP2C9 mogu imati pojačani i produžen učinak kumarinskih lijekova (varfarin). Homozigotni nositelji polimorfizma *VKORC1* sporo metaboliziraju kumarinske lijekove (varfarin) čime je učinak lijeka pojačan i produžen. Taj pojačan učinak kumarinskih lijekova posebno je izražen u kombinaciji s istovremeno nađenim polimorfizmom i u genu za CYP2C9. Preporuka CPIC-a za procjenu stabilne doze varfarina jest korištenje algoritama na <http://www.warfarindosing.org>, prikazanih u tablici 3.



**Tablica 3.** Preporuke za liječenje kumarinskim antikoagulantnim lijekovima (varfarin, fenprokumon) CPIC (A) i PharmGKB (1A), <http://www.warfarindosing.org>

| VKORC1/CYP - genotip  | Preporučena terapija   |
|---|--|
| VKORC1, wt/wt / CYP2C9 wt/wt*   | Terapija sukladno uputama o lijeku                                       |
| VKORC1, wt/wt ili rizična varijanta heterozigot/<br>CYP2C9 rizična varijanta hetero ili homozigot | Reduciranje početne doze za 27 – 34 %, potrebne su učestale kontrole INR |
| VKORC1, rizična varijanta/ CYP2C9 wt/wt   | Reduciranje početne doze za 50 %, potrebne su učestale kontrole INR      |
| VKORC1, rizična varijanta homozigot/<br>CYP2C9 rizična varijanta hetero ili homozigot             | Reduciranje početne doze za 55 – 61 %, potrebne su učestale kontrole INR |

\* wilde type/divlji tip

## 4. Farmakogenomika transportera

Mnogi genetski polimorfizmi transportera lijekova prema dosadašnjim farmakogenetskim ispitivanjima povezani su s ishodom liječenja, no za većinu njih još je prerano zaključiti da bi se njihovom genotipizacijom mogla pouzdano predviđati terapija. Jedini izuzetci za koje se čini bi bilo korisni u predviđanju ishoda kemoterapije, su polimorfizmi gena ABCB1, obitelji ABC transportera i njegova prekomjerna ekspresija u tumorskom tkivu te SLCO1B1 član obitelji transportera organskih aniona, SLCO, za kojeg postoje preporuke CPIC-a i PharmGKB-a za njihovu kliničku primjenu (Reynolds 2014).

### 4.1. Topljivi transporter organskih aniona (Solute carrier organic anion transporter family member 1B1 (SLCO1B1))

SLCO1B1 pripada velikoj obitelji membranskih transportera koji svoje supstrate ubacuje u stanice jetre. Polimorfizam SLCO1B1, alel \*5, može utjecati na razine njegovih supstrata u krvi, poput lijekova statina. Varijante gena (15 % populacije ima varijantu \*5) koje mu smanjuju aktivnost i rezultiraju povišenim razinama statina (osobito simvastatina i nešto manje atorvastatina) u krvi te tako 3 do 5 puta povisuju rizik od nuspojava poput mialgije i rabdomiolize. Danas su dostupne i smjernice doziranja statina temeljene na određivanju polimorfizama SLCO1B1. Primjerice u heterozigotnih pacijenata s C alelom (alel \*5) postoji umjereni rizik miopatije čak i pri nižim dozama simvastatina (40mg dnevno), te ukoliko se nižom dozom (<40mg u heterozigoti, te <20mg u homozigota) ne postiže terapijski učinak – preporuča se promijeniti lijek. Preporuka CPIC-a (A) i dokazi kliničke evidencijske razine PharmGKB (1A); pacijentima s intermedijarnom funkcijom (heterozigoti) i slabom ili lošom funkcijom (homozigoti) SLCO1B1 (alel \*5) treba propisati niže doze simvastatina ili dati alternativni statin (pravastatin, rosuvastatin).

## 5. Farmakogenomika receptora

Zadnjih su godina intenzivirana istraživanja genskih varijanti receptora na kojima lijekovi očituju svoj ciljni učinak (Reynolds 2014). Primjer receptora koji zbog genske varijacije ima izmijenjen terapijski odgovor je  $\beta$ 2-adrenergički receptor čime se mijenja terapijski učinak antipsihotika klopapina. Drugi primjer je mutacija u genu dopaminskog D3 receptora, koja povisuje njegovu afinitet prema dopaminu i agonistima. Time se produžuje i pojačava njihovo djelovanje, što se povezuje sa ekstrapiramidnim simptomima nakon uzimanja neuroleptika (npr. tardivna diskinezija). Iako mnoge polimorfne varijante receptora mogu utjecati na ishod liječenja, za mnoge je još prerano zaključiti da bi se genotipizacijom mogla predvidati terapija, stoga ne postoje preporuke CPIC-a i PharmGKB snage značajnosti razine A i 1A. Dosadašnji rezultati istraživanja sprege gene/lijek i polimorfizama b-adrenergičkih, dopaminskih, serotoninških, opioidnih i rijandinskih receptora ne pokazuju kliničku razinu značajnosti te zahtijevaju daljnje rezultate istraživanja, koji bi omogućili donošenje preporuke s razinom kliničke evidencijske razine A i 1A.

## 6. Farmakogenomika ostalih proteina

### 6.1. Humani leukocitni antigen B (HLA-B)

Humani leukocitni antigen B (HLA-B) je gen koji kodira proteine na površini stanice, koji su uključeni u predstavljanje antigena imunološkom sustavu. HLA-B gen igra važnu ulogu u imunološkom prepoznavanju i reagiranju na patogene, te posreduje u reakcijama preosjetljivosti. Gen HLA-B je najpolimorfniji gen u ljudskom genomu s oko 3000 varijantnih alela. Aleli HLA-A\*31:01; HLA-B\*15:02; HLA-B\*57:01; HLA-B\*58:01 dosad su najviše istraženi aleli te su za njih napravljene CPIC preporuke u odnosu gen/lijek. Prisutnost ovih alela je povezana s preosjetljivošću na određeni lijek (Martin, 2014).

Utvrđeno je da je alel HLA-B\*57:01 povezan s preosjetljivošću lijeka abakavira koji se rabi u liječenju infekcije virusom humane imunodeficiencije (HIV) (Sousa-Pinto, 2015). Abakavir je inhibitor reverzne transkriptaze (NRTI) i koristi se u kombinaciji s drugim lijekovima kao dio visoko aktivne antiretrovirusne terapije. Reakcije preosjetljivosti povezane s abakavirom mogu biti vrlo ozbiljne pa čak i fatalne. Približno 6 % bjelačke populacije i 2 do 3 % Afroamerikanaca nosi taj alel. Za sve pacijente prije početka terapije abakavirom preporučuje se farmakogenomsko pretraživanje za alel HLA-B\*57:01. Čak i ako se u početku lijek dobro podnosi, probir bi se trebao napraviti prije ponovnog početka liječenja abakavirom ako je status HLA-B\*57:01 nepoznat. Abakavir je kontraindiciran kod bolesnika pozitivnih

na HLA-B\*57:01 i kod bolesnika s prethodnom reakcijom preosjetljivosti na abakavir. Smjernice CPIC-a i PharmKGB (A, 1A) preporučuju da se pretraživanje na alel HLA-B \* 57:01 provede prije početka terapije abakavirom i u slučaju pozitivnog nalaza da se u tih pacijenata primjeni alternativni lijek (Dean, 2015; Illing, 2017).

Varijantni alel HLA-B\*15:02, povezan je s povećanim rizikom od Stevens-Johnsonovog sindroma (SJS) i toksične epidermalne nekrolize (TEN) kao odgovor na liječenje karbamazepinom. S preosjetljivošću na karbamazepinom povezan je i alel HLA-A\*31:01. Međutim, s alelima HLA-B\*15:02 i CYP2C9\*2 i \*3 povezan je uspjeh liječenja fenitoinom.

## 7. Budućnost farmakogenomike

Sadašnji pristup u otkrivanju genskih predispozicija prema neželjenim reakcijama na liječenje ograničen je još uvijek nedovoljnim poznavanjem mehanizama pri kojima do ovih reakcija uopće dolazi, ali i interakcijama između lijeka ili njegovih međuprodukata te kombinaciji polimorfnih gena. Poznavanje opsežnih opće genomske mapa SNP polimorfizama visoke gustoće u budućnosti će omogućiti probiranje farmakogenetski aktivnih gena unutar cijeloga genoma. Time se već bavi Međunarodna grupa za SNP mapiranje (*The International SNP Map Working Group*) koja je do sada objavila više od 1,4 milijuna SNPova u genomu, s prosječnim razmakom od jednog SNP na svakih 1,8 tisuća nukleotida. Među njima je najmanje 60000 SNPova u kodirajućim regijama gena i stoga je vjerojatno da su oni i funkcionalno aktivni.

Krajni cilj istraživanja genskih polimorfizama je izrada svojevrstne „farmakogenetske osobne iskaznice” koja bi omogućila uvid u individualno predviđanje odgovora na terapiju i tako pomogla personalizaciji medicine (Lemke, 2018). Međutim, još su mnoge prepreke na tom putu. Među njima je razvoj tehnologija za mapiranje SNPova i metoda genotipizacije, interpretacija nalaza koji sadrži goleme količine podataka s obzirom na moguće kombinacije polimorfizama ispitivanih gena sa predviđenom terapijom te razrada etičkih kriterija koji trebaju osigurati gensku ravnopravnost pri, na primjer, ostvarivanju prava na zdravstveno osiguranje ili posao (Salgado, 2017).

Neupitno je da je u zadnjih je tridesetak godina farmakogenomika zasigurno privukla pažnju kao disciplina koja bi mogla pridonijeti zdravstvenoj skrbi za bolesnika. Dok se u znanstvenim publikacijama još uvijek razrađuje njen klinički utjecaj i znanje potrebno za definiranje i tumačenje istraživanja kako bi se procijenila klinička korisnost farmakogenomike, ona polako ali sigurno ulazi u kliničku praksu (Hasija 2014). CPIC je zajedno s partnerima PharmGKB i PGRN kreirao smjernice osmišljene kako bi pomogle kliničarima u primjeni dostupnih farmakogenetskih

testove za optimizaciju terapije, a ne za naručivanje testova. Do sada su sakupljeni podaci o 359 gen/lijek farmakogenetskih ispitivanja i povezanosti s određenim bolestima, no među njima dosad je iznjedrilo tek 23 preporuka CPIC-a za odnos gen/lijek s najvišom kliničko evidencijskom razinom (A) i najjačom snagom dokaza (1A). Međutim, rad na razvoju novih smjernica nastavlja se vrlo intenzivno i gotovo je sigurno da će u skoroj budućnosti farmakogenomika i farmakogenetska strazivanja polimorfizama omogućiti izradu „farmakogenetske osobne iskaznice” i na taj način osigurati individualno predviđanje odgovora na terapiju i pomoći personalizaciji medicine.

## Literatura

1. Buckingham, L. 2019. *Molecular Diagnostics: Fundamentals, Methods and Clinical Applications*. Philadelphia: FA Devis com.
2. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC®); gene/drugs. <https://cpicpgx.org/genes-drugs/>. 24. travnja 2019.
3. CPIC guidelines. <https://cpicpgx.org/guidelines/>. 15. ožujka 2019.
4. Dean, L. 2015. Abacavir Therapy and *HLA-B\*57:01* Genotype Created: September 1, 2015; Last Update: April 18, 2018. Medical Genetics Summaries. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK315783/>. 4. svibnja 2019.
5. Goetz, M. P. et al. 2008. Tamoxifen Pharmacogenomics: The Role of CYP2D6 as a Predictor of Drug Response. *Clin Pharmacol Ther*, 83 (1): 160–66.
6. Hasija, Y. et al. 2014. Pharmacogenomics for Precision Medicine in the Era of Collaborative Co-creation and Crowdsourcing. *Curr Genet Med Rep*, 2: 182–189.
7. Human CYP P450 genes. <http://drnelson.uthsc.edu/cytochromeP450.html>. 15. ožujka 2019.
8. Illing, P. T. et al. 2017. The role of HLA genes in pharmacogenomics: unravelling HLA associated adverse drug reactions. *Immunogenetics*, 69 (8/9): 617–630.
9. Kelly, E. et al. 2017. Standardizing terms for clinical pharmacogenetic test results: consensus terms from the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC). *Genetics in Medicine*, 19: 215–23.
10. Lemke, A. A. et al. 2018. Patient perspectives following pharmacogenomics results disclosure in an integrated health system. *Pharmacogenomics*, 19 (4): 2017–2191. DOI:org -10.2217.
11. Martin, M. A. et al. 2014. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for HLA-B Genotype and Abacavir Dosing: 2014 update. *Clin Pharmacol Ther*, 95 (5): 499–500.
12. McMillin, G. A. 2015. Pharmacogenetics. U: Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, ur. Burtis, C. A. et al., 1339–1370. Philadelphia: Elsevier.
13. National Institute of Health Pharmacogenetics Research Network's PharmGKB: The Pharmacogenetics and the Pharmacogenomics Knowledge Base. <https://www.pharmgkb.org/>. 15. ožujka 2019.
14. Reynolds, G. P. et al. 2014. Pharmacogenomics in psychiatry: the relevance of receptor and transporter polymorphisms. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 77 (4): 654–672. doi:10.1111/bcp.12312.

15. Salgado, R. et al. 2017. Societal challenges of precision medicine: bringing order to chaos. *Eur J Cancer*, Oct, 84: 325–334. doi: 10.1016/j.ejca.2017.07.028.
16. Sousa-Pinto, B. et al. 2015. Pharmacogenetics of abacavir hypersensitivity: A systematic review and meta-analysis of the association with HLA-B\*57:01. *J Allergy Clin Immunol*, 136 (4): 1092–4.e3.
17. Spina, E. i de Leon, J. 2015. Clinical applications of CYP genotyping in psychiatry. *J Neural Transm*, 122: 5–28.
18. Topić, E. et al. 2018. Farmakogenetika. U: *Medicinska biokemija i laboratorijska medicina u kliničkoj praksi*, 2. izd., ur. Topić, E. et al., 655–679. Zagreb: Medicinska naklada.
19. Topić E. 2014. The Role of Pharmacogenetics in the Treatment of Diabetes Mellitus. *J Med Biochem*, 33 (1): 58–70. doi: 10.2478/jomb-2013-0045
20. Valdes, R. et al. 2010. *Laboratory analysis and application of pharmacogenetics to clinical practice*. The National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) – Laboratory Medicine Practice Guidelines. <https://pdfs.semanticscholar.org/e7db/f8be3ead9e-f9ffc6440c03667224c1b70a52.pdf> 6. lipnja 2019.
21. Van Neste, L. i Van Criekinge, W. 2015. We are all individuals; bioinformatics in the personalized medicine era. *Cell Oncol*, 38: 29–37.
22. Whirl-Carrillo, M. et al. 2012. Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 92 (4): 414–417.



## **Pharmacogenomics: Significance for medicine in the following decades**

### **Abstract**

The future of medicine undoubtedly aims at the exceptional methods of early diagnostics and individually tailored treatment. Therefore, in 2016, the EU Commission included the concept of personalised medicine into its key priorities in health care and established the International Consortium for Personalised Medicine (ICPerMed), whose task is to synchronise the work of all EU member states, including the participation of Croatia, on the standardisation of diagnostic and therapeutic procedures related to personalised medicine. The key areas of personalised medicine are: the identification of genes and molecular markers related to diseases; pharmacogenomics (assessment of benefit/risk ratio in the selection and dosage of specific medications, prediction of side effects); and risk assessment of the development of the most frequent diseases of modern civilisation and subsequent treatment. The application of pharmacogenomics results in the concept of personalised medicine depends on the capabilities of clinical laboratories to provide the clinician with precise, accurate and useful information at the right time in order to enable the prescription of the right medication in a right dosage for each individual patient. This paper details the achievements of pharmacogenomics, which plays a significant role in personalised medicine and enables the

transformation from reactive to proactive medicine. It also presents recommendations of CIPC (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium) for testing the gene/drug relationship for the 19 most frequent drugs used in the Republic of Croatia with the purpose of ensuring corresponding treatment.

Key words: Personalised medicine, pharmacogenomics, gene/drug concept, CIPC guidelines