

Farmakogenomika i farmakovigilancija

Pharmacogenomics and Pharmacovigilance

NADA BOŽINA

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za farmakologiju
Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Odjel za farmakogenomiku i individualizaciju terapije

SAŽETAK Razvoj nove discipline farmakogenetike/farmakogenomike omogućio je bolje razumijevanje genetičke predispozicije za razvoj neočekivanih reakcija na primijenjeni lijek i posljedično unaprijedio individualizaciju farmakoterapije. Postoje genetički određene interindividualne razlike u metaboličkom i transportnom kapacitetu, a time i kinetici lijekova i drugih ksenobiotika. Osim nuspojava lijekova koje su ovisne o dozi važne su nuspojave posredovane imunskim reakcijama, a povezane su s varijabilnosti u sustavu HLA. Individualna osjetljivost prema toksičnim učincima farmakoterapije, ovisna o biotransformacijskim procesima, povezuje se s genskim polimorfizmima enzima faze I. i II. te transporterima ABC i SLC. Genski polimorfizmi također mogu imati ključnu ulogu u interakcijama lijekova. Povezivanje farmakogenomike s farmakovigilancijom ima važnu ulogu i u praćenju pojavnosti nuspojava poslije stavljanja lijeka na tržište. Regulatorna tijela uvođenjem farmakogenomičkih informacija (informacije o genomskim biljezima) u Sažetku o proizvodu (SPC) nastoje istaknuti ulogu i važnost genomskih varijabilnosti u farmakoterapiji. Također se navodi kojoj kategoriji te farmakogenetičke informacije pripadaju, tj. smatra li se testiranje obvezatnim, ima li ulogu preporuke ili je informativnog karaktera. Radi prikupljanja i implementacije znanja ustanovljeni su i različiti konzorciji među kojima prednjači *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* – CPIC, kao zajednički projekt *The Pharmacogenomics Knowledge Base* (PharmGKB) i *The Pharmacogenomics Research Network* koji je okupio eminentne stručnjake iz područja farmakogenetike/farmakogenomike. Glavni je cilj CPIC-a izdavanje recenziranih, ažuriranih, temeljenih na dokazima, slobodno dostupnih uputa i smjernica za primjenu lijeka prema rezultatu farmakogenetičkih analiza. Te će smjernice svakako ubrzati prijenos znanja u kliničku primjenu.

KLJUČNE RIJEČI: farmakogenetika, farmakogenomika, farmakovigilancija, nuspojave, personalizirana medicina

SUMMARY The development of a new discipline, pharmacogenetics/pharmacogenomics, has enabled a better understanding of genetic predispositions for unexpected drug reaction developments, and consequently it improves the individualization of pharmacotherapy. There are certain genetic individual variations in metabolic and transport capacity, and thus the kinetics of drugs and other xenobiotics. In addition to adverse drug reactions (ADR) that are dose-dependent, significant ADR are mediated by immune reactions and are associated with variations in the HLA system. The individual sensitivity to the pharmacotherapy toxic effects, dependent on biotransformation processes, is associated with the genetic polymorphism of the phase I and phase II enzymes and ABC and SLC transporters. Genetic polymorphisms can also play a key role in drug interactions. Connecting pharmacogenomics to pharmacovigilance has a significant role in monitoring ADR during the post-marketing period. Regulatory authorities highlight the role and importance of genomic variability in pharmacotherapy by introducing pharmacogenomics (information on genomic markers) in the SPC. It also states into which category pharmacogenetics information belongs, whether pharmacogenetic testing is required, recommended or informative. In order to collect and implement pharmacogenomic knowledge different consortia have been established, including prestige *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC), as a joint project of *The Pharmacogenomics Knowledge Base* (PharmGKB) and the *Pharmacogenomics Research Network*, which brought together eminent experts in the field of pharmacogenetics/pharmacogenomics. The main objectives of CPIC's is to provide peer-reviewed, updated, evidence-based, freely available recommendations and guidelines for drug use according to results of pharmacogenetic analysis. These guidelines will certainly accelerate the knowledge transfer to the clinical use.

KEY WORDS: pharmacogenetics, pharmacogenomics, pharmacovigilance, adverse drug reactions, personalized medicine

Uvod

→ Koncept „personalizirana medicina“ u posljednjem je desetljeću znatno prisutan u medicinskoj praksi s tendencijom daljnjeg razvoja i ulaska u svakodnevnu kliničku praksu. Takav tijek ne iznenađuje, budući da su ciljevi tog koncepta što ranije otkrivanje bolesti i što ranija primjena odgovarajuće farmakoterapije te posljedično tomu bitno smanjenje ukupnih troškova zdravstvenog su-

stava. Rastuće spoznaje o važnoj ulozi nasljeđa u učincima farmakoterapije, što znači da se oni mogu predvidjeti analizom gena, rezultirale su nastankom nove discipline nazvane farmakogenetika/farmakogenomika. Farmakogenetika najčešće ispituje jednu ili nekoliko genetičkih inačica, dok se farmakogenomika bavi simultanim ispitivanjem utjecaja mnogih gena na učinkovitost i nuspojave specifične farmakoterapije. Stoga farmakogenomika uključuje ispi-

vanja varijabilnosti na razini farmakokinetike (apsorpcija, raspodjela, metabolizam i izlučivanje), kao i farmakodinamiku lijeka.

S boljim razumijevanjem interindividualnih razlika na razini sekvencije DNK unaprijeđeno je naše znanje o povezanosti učinaka skupina lijekova, ali i učinaka pojedinih lijekova, s određenim varijantama gena (1). Sva ta saznanja rezultirala su i većim fokusiranjem akademske zajednice, zdravstvenih stručnjaka, farmaceutske industrije te nacionalnih i međunarodnih regulatornih tijela na istraživanje genetičke osnove varijabilnosti individualnog odgovora na pojedine vrste farmakoterapije, što je osnova za daljnji razvoj individualizirane farmakoterapije. Identifikacija genskih polimorfizama, najčešće SNP-a (engl. *Single-Nucleotide Polymorphism*), i pojedinih i u kombinacijama, može pomoći u predviđanju individualnog odgovora pacijenta na primijenjeni lijek, poboljšati učinkovitost lijeka, smanjiti rizik od razvoja nuspojava, a u konačnici smanjiti ukupne troškove zdravstvene zaštite. Baze podataka o povezanosti različitih polimorfizama s ishodima farmakoterapije stalno se nadopunjuju, a posebno su važne cjelogenomske studije povezanosti (engl. *Genome Wide Association Study* – GWAS) koje se provode u različitim etničkim skupinama. Otkrivanje genetičkih biljega najčešće se provodi u studijama koje se temelje na ispitivanjima slučajeva i kontrola (tj. ispitivanjima parova) (engl. *case-control study*). Svaki genetički biljeg koji se otkrije u ispitivanju parova te je prisutan s većom učestalošću u skupini s ispitivanom pojavom/bolesti (slučajevi) u odnosu prema kontrolnim ispitanicima (skupina bez ispitivane pojave/bolesti) potencijalni je rizični čimbenik, koji se treba dalje potvrditi u replikacijskim studijama s većom dokaznom snagom. Daljnji napredak „personalizirane medicine“, tj. njezina dijela – individualne farmakoterapije – usmjeren je prema razvoju lijekova prikladnih za primjenu u specifičnim subpopulacijama bolesnika. Broj kroničnih bolesnika s više istodobnih bolesti uz istodobnu primjenu različitih lijekova u stalnom je porastu, što bitno utječe na složenost odluke o izboru farmakoterapije. Publicirani su brojni radovi koji govore o prednostima individualiziranoga farmakološkog pristupa, i u odabiru samog lijeka i doze lijeka, u odnosu prema pristupu temeljenom samo na rezultatima farmakokinetičkih studija na populacijskoj razini. Iz svega navedenoga vidljiva je uloga farmakogenomike kao važne karike u „personaliziranoj medicini“ s naglaskom na genomske i epigenomske čimbenike koji utječu na farmakokinetiku (FK) i farmakodinamiku (FD), a izuzetno je bitna i u razumijevanju interakcija lijekova. Dok je naše znanje o epigenomici kao modulatoru učinkovitosti farmakoterapije i danas u razvojnoj fazi (2), velika količina znanja o utjecaju genomskih čimbenika na farmakoterapiju već je dostupna i primjenjiva. Smatra se da čimbenik genetičke varijabilnosti može

doprinositi udjelom od 25 do 50% u ukupnoj pojavnosti neočekivane reakcije na lijek (1). Integriranje određivanja genomskih biljega u kliničke i druge studije, kao i navođenje podataka o metodologijama koje se rabe za njihovo određivanje, moraju slijediti određene principe koji prihvaćaju i razmatraju utjecaj biljega na studiju i ishode analiza s intencijom povećanja koristi za pacijenta. Važan je naglasak u asocijacijskim studijama i na fenotipskim podacima, tj. dobro definiranim kriterijima toksičnosti prema međunarodno prihvaćenim standardima (3, 4).

Osim interindividualnih razlika u učinku lijekova važne su i interindividualne razlike u kapacitetu metaboliziranja i detoksikacije lijekova i drugih ksenobiotika. Te razlike mogu biti posljedica genetičkih, epigenetičkih, patofizioloških i okolišnih čimbenika. Povišenje razine znanja o mehanizmima koji stoje u pozadini nastanka nuspojava zbog farmakogenetičkih varijacija u metabolizmu i prijenosu lijeka bitno je za učinkovitu i sigurnu primjenu lijeka, a isto tako i za uspješan razvoj novih lijekova. Zbog metaboličke aktivacije izvornog lijeka (engl. *parent drug*) dio nuspojava rezultat je nastanka reaktivnih produkata i toksičnosti posredovane imunošću koja uključuje prirodni imunوسي sustav.

Važne su povezanosti između humanoga leukocitnog antigena (HLA) i sklonosti nuspojavama u obliku različitih kožnih reakcija (engl. *drug-induced skin injury* – DISI) i oštećenjima jetara (engl. *drug-induced liver injury* – DILI). Te reakcije nisu ovisne o razini izloženosti lijeku (FK) ili aktivnosti lijeka (FD) (5, 6). Nuspojave lijekova najčešće zahvaćaju srčanu funkciju ili dovode do oštećenja jetara te je i najveći broj lijekova povučen s tržišta baš zbog kardiotoksičnih ili hepatotoksičnih nuspojava (7).

Biotransformacija lijeka kao izvor varijabilnosti učinka i pojavnosti neželjenih reakcija

Individualna osjetljivost prema toksičnim učincima farmakoterapije, ovisnim o metaboličkim procesima, povezuje se s genskim polimorfizmima enzima faze I. i faze II. metabolizma.

Spoznaje o enzimskim sustavima i njihovoj centralnoj ulozi u razvoju nuspojava krucijalno su važne za sigurnu primjenu farmakoterapije. U ispitivanjima sigurnosti primjene lijekova oko 59% navedenih lijekova metabolizira se polimorfnim enzimima faze I., a među njima čak 86% preko enzima citokroma P450 (CYP). Nasuprot tomu samo 20% lijekova nije bilo supstrat polimorfnih enzima (8). S obzirom na sposobnost i brzinu metaboliziranja lijeka, razlikuju se četiri specifična fenotipa koji se mogu odrediti fenotipizacijom ili genotipizacijom: spori/slabi metabolizator (engl. *Poor Metabolizer* – PM), srednje brzi metabolizator (engl. *Intermediate Metabolizer* – IM), brzi metabolizator (engl.

Extensive Metabolizer – EM) i vrlo brzi metabolizator (engl. *Ultraprapid Metabolizer* – UM) (9). Spori metabolizatori nemaju aktivne alele te mogu iskusiti više nuspojava pri prosječnim dozama zbog smanjenog metabolizma i povišene koncentracije lijeka u organizmu jer dolazi do njegove akumulacije. Ali ako osobe s nedostatkom aktivnih alela prime predlijeke, u njih može izostati terapijski odgovor zbog koncentracije niže od očekivane aktivnog metabolita (primjeri su klopogrel i varijante gena *CYP2C19*, tamoksifen i kodein i varijante gena *CYP2D6*). Osobe sa srednje brzim metaboličkim fenotipom mogu biti homozigoti za dva alela reducirane aktivnosti ili su heterozigoti, tj. nositelji jednog inaktivnog alela. Oni mogu iskusiti u nešto manjem opsegu nuspojave koje se javljaju u sporih metabolizatora. Brzi metabolizatori imaju dva potpuno aktivna alela i pokazuju očekivani učinak pri primjeni prosječnih doza lijeka. Vrlo brzi metabolizatori jesu osobe koje imaju više od dviju kopija aktivnih gena. Kod njih, zbog ubrzanog metabolizma, pri primjeni prosječnih doza lijeka može izostati postizanje njegovih terapijskih koncentracija i očekivana učinkovitost lijeka. Ali ako vrlo brzi metabolizatori prime predlijeke, može doći do razvoja nuspojave zbog koncentracija viših od očekivanih aktivnog metabolita (primjer su gen *CYP2D6* i biotransformacija kodeina u morfin). Za kliničku praksu od najvećeg su značenja polimorfizmi gena *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* i *CYP3A4/5* (10).

Biotransformacijski procesi faze II. također pokazuju visoku interindividualnu varijabilnost. Od osobitog su značenja za kliničku praksu polimorfizmi enzima tiopurin-metiltransferaze (TPMT), UDP-glukuronoziltransferaze (UGT1A), N-acetiltransferaze 2 (NAT2) i glutation S-transferaze (GST) (11 – 13).

Varijabilnost prijenosa lijekova preko barijera

Uz metaboličke enzime faze I. i II. važnu ulogu u farmakokinetici, moduliranju bioraspodjelivosti, a time i učinkovitosti lijeka imaju i transportni proteini koji se još nazivaju i fazom III. biotransformacije, a važni su u prijenosu lijekova kroz različite biološke membrane. Polimorfizmi gena transportnih proteina mogu utjecati na regulaciju apsorpcije, raspodjele i izlučivanja mnogih lijekova. Mnogi su lijekovi supstrati transportnih proteina iz superporodica ABC i SLC (14, 15). Do sada je najviše istraživani polimorfizam gena *MDR1/ABCB1* koji kodira P-glikoprotein (Pgp) (16). Mnogi su lijekovi supstrati Pgp-a i genetička varijabilnost *ABCB1* može utjecati na njihovu bioraspodjelivost modulirajući domete prijenosa lijeka na različitim barijerama (gastrointestinalnoj, hepatobilijarnoj, krvno-moždanoj, placenti i bubrezima) (17).

Druga klinički važna superporodica za koju postoje snažni dokazi o povezanosti genskih polimorfizama s učinkovito-

šću i nuspojavama lijekova jest SLC (engl. *Solute Carriers*). Uz aktivnost organskog anionskog transportnog polipeptida OATP1B1 (kodiranoga genom *SLCO1B1*) povezuju se nuspojave vezane uz primjenu statina. Tako je utvrđen znatno veći rizik od razvoja miotoksičnosti, uključujući i rabdomiolizu, u nositelja varijantnih alela *SLCO1B1 521T > C*, pri čemu homozigoti 521CC imaju gotovo 17 puta veći rizik od razvoja miotoksičnosti uključujući i rabdomiolizu u odnosu prema nositeljima genotipa 521TT uz primjenu visokih doza simvastatina (18). Osim statina i neki su drugi lijekovi supstrati ovoga transportnog polipeptida (mikofenolna kiselina, metotreksat, repaglinid, inhibitori enzima koji konvertira angiotenzin i angiotenzinskog receptora tipa 1) te postoje dokazi o povezanosti varijabilnosti njihove bioraspodjelivosti s varijantama gena *SLCO1B1* (19).

Nuspojave povezane s varijabilnosti u sustavu HLA

Dobro dokumentirani primjeri uključuju alele sustava HLA i idiosinkratske reakcije na abakavir, karbamazepin i alopurinol. Nositelji alela *HLA-B*5701* imaju povećan rizik od razvoja jakih reakcija preosjetljivosti na antiretrovirusni lijek abakavir (20). U prospektivnome randomiziranom kliničkom ispitivanju utvrđeno je da se u oko polovine pacijenata s alelom *HLA-B*5701* razvijaju reakcije preosjetljivosti za vrijeme liječenja abakavirom (s relativno visokom pozitivnom prediktivnom vrijednosti od 48 ili 61% ovisno o dijagnostičkoj metodi). Farmakogenomska ispitivanja povezanosti za abakavir provedena su poslije stavljanja lijeka na tržište i rezultirala su dopunom sažetka o lijeku (engl. *Summary of Product Characteristics* – SPC) te su uključila preporuke za testiranje na prisutnost alela *HLA-B*5701* prije primjene lijeka (21). U retrospektivnom ispitivanju parova poslije stavljanja karbamazepina na tržište uočena je i jaka povezanost između odsutnosti alela *HLA-B*1502* i niske incidencije Stevens-Johnsonova sindroma ili drugih kožnih reakcija na karbamazepin (22). Također valja naglasiti da je test na *HLA-B*1502* najkorisniji u određenim azijskim populacijama, zbog visoke negativne prediktivne vrijednosti, kao i relativno visoke učestalosti ovog alela u tim populacijama. Zbog ovog primjera bitno je naglasiti i ulogu etničke pripadnosti i statusa pojedinoga genomskog biomarkera u određenim populacijama (23).

Reakcije preosjetljivosti na lijek manifestiraju se različitim fenotipovima; uglavnom su to nuspojave na koži koje mogu biti u blažem obliku (npr. egzantem, urtikarija, angioedem) ili u obliku jakih kožnih reakcija (engl. *Severe Cutaneous Adverse Reactions* – SCAR). SCAR su reakcije opasne za život, a uključuju Stevens-Johnsonov sindrom (engl. *Stevens-Johnson syndrome* – SJS), toksičnu epidermalnu nekrolizu (engl. *toxic epidermal necrolysis* – TEN), akutnu generaliziranu egzantematoznu pustulozu (engl. *acute generalized exanthematous*

pustulosis – AGEP), reakcije s eozinofilijom i sistemskim simptomima (engl. *drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms complex* – DRESS) ili sindrom preosjetljivosti izazvan lijekovima (engl. *drug-induced hypersensitivity syndrome* – DIHS).

Genetička predispozicija za razvoj hepatotoksičnosti uzrokovane lijekovima —

GWAS su identificirale više varijantnih alela sustava HLA, kao čimbenika oštećenja jetara uz primjenu različitih lijekova (amoksicilin-klavulanat/HLA-DQB1, flukloksacilin/HLA-B*5701, lapatinib/HLA-DQA1, nevirapin/HLA-DRB1*01, tiklopidin/HLA-B*44:03) (24, 25).

Genetička predispozicija za razvoj hepatotoksičnosti uzrokovane lijekovima (engl. *Drug Induced Liver Injury* – DILI) može se također pokazati na farmakokinetičkoj (FK) i farmakodinamskoj (FD) razini. Kao rizični čimbenici za DILI identificirane su varijante gena različitih metaboličkih enzima poput polimorfizama *CYP2C9*, *UGT2B7* i *ABCC2* uz primjenu diklofenaka (26, 27), *CYP2E1* i *NAT2* za antituberkulotike (28) i drugih gena (29).

Farmakogenetika i interakcije lijekova —

Inhibicija i indukcija metabolizma, ali i transporta lijeka čest su uzrok farmakokinetičke varijabilnosti i u podlozi su mnogih interakcija lijekova. Interakcije na razini enzima *CYP3A4* česte su jer enzim ima vrlo širok spektar supstrata. Mnogi supstrati *CYP3A4*, kao i inhibitori i induktori identični su onima *P-glikoproteina*. *P-gp* i *CYP3A4* mogu se naći već u enterocitima gdje čine važan sustav obrane od učinka ksenobiotika. Interakcije lijekova posebno mogu imati naglašene učinke u populaciji bolesnika koji već zbog farmakogenetičke predispozicije imaju promijenjenu bioraspoloživost lijeka, što u kumulativnom učinku može dovesti do slabe učinkovitosti ili opasnih nuspojava (30). Tako je dokumentiran slučaj razvoja ekstrapiramidnih simptoma nakon primjene haloperidola u pacijenta sporog metabolizatora za *CYP2D6* uz konkomitantnu primjenu ciprofloksacina (31). Poučan je i slučaj razvoja rhabdomiolize na primjenu erlotiniba u bolesnice koja je imala genetički determiniranu nisku aktivnost *P-glikoproteina* koja je dodatno oslabljena primjenom oksikodona (32).

Farmakogenomika promiče i razvoj ciljane terapije. Postoje vrlo dobri primjeri u liječenju raka poput analize gena za *K-ras* uz primjenu cetuksimaba/panitumumaba; *BRAF* i vemurafenib; *EGFR* i gefitinib/erlotinib/afatinib; *EML4-ALK* i krizotinib, *cKIT* i imatinib i *KIT* (33).

Farmakogenomika i farmakovigilancija —

Farmakogenomski podaci važni su i u procjeni učinkovitosti i sigurnosti lijeka i u regulatornom procesu njihova odo-

brenja i praćenja, tj. tijekom cijeloga životnog ciklusa lijeka (34). Povezivanje farmakogenomike s farmakovigilancijom ima važnu ulogu u praćenju pojavnosti nuspojava poslije stavljanja lijeka na tržište. Regulatorna tijela uvođenjem farmakogenomičkih informacija (informacije o genomskim biljezima) u SPC nastoje istaknuti ulogu i važnost genomskih varijabilnosti u farmakoterapiji (35). Također se navodi kojoj kategoriji te farmakogenetičke informacije pripadaju, tj. smatra li se testiranje obvezatnim, ima li ulogu preporuke ili je informativnog karaktera. U registracijskoj dokumentaciji (SPC) za lijekove registrirane na području SAD-a (FDA) u slučaju 55 lijekova (22%) navodi se podatak o obvezatnom farmakogenetičkom testiranju prije uporabe lijeka, dok se taj podatak za lijekove registrirane u EU-u (engl. *European Medicine Agency* – EMA) navodi za 35 lijekova (14%). Za 61 lijek (24%) registriran na području SAD-a, a za 35 lijekova (14%) registriranih na području EU-a, navodi se samo informacija o postojanju genotipa i fenotipa povezanih s metabolizmom i transportom ili farmakodinamikom lijeka (36).

Europska agencija za lijekove (EMA) redovito ažurira upute i smjernice o ključnim aspektima primjene farmakogenomskih metodologija u farmakovigilanciji *Guideline on key aspects for the use of pharmacogenomic methodologies in the pharmacovigilance evaluation of medicinal products* (37). Cilj je smjernica osigurati okvir i preporuke kako ocijeniti pitanja vezana uz farmakovigilanciju, a koja su determinirana farmakogenomskim biomarkerima te kako prevesti rezultate istraživanja u odgovarajuće kliničke smjernice i uključiti ih u informacije o lijeku. U navedenim smjernicama nalaze se i primjeri genomskih biljega relevantnih za farmakovigilanciju. Poseban je naglasak stavljen na potrebne aktivnosti i mjere koje se moraju provesti radi minimizacije rizika u specifičnim genetički determiniranim subpopulacijama.

Iz svega prethodno navedenoga vidljiva je velika i neupitna uloga farmakogenetike/farmakogenomike kao pokretačkog kotača „personalizirane medicine“ te su stručna farmakogenomska društva osnovala mrežu s glavnim ciljem donošenja stručnih preporuka i jasnih smjernica o tome kako prilagoditi farmakoterapiju prema rezultatima farmakogenetičkih analiza. Među najistaknutijim stručnim društvima svakako su američko društvo *The Pharmacogenomics Knowledge Base* (<http://www.pharmgkb.org>) i nizozemska radna skupina *Dutch Pharmacogenetics Working Group* (DPWG). Na internetskim stranicama američkog društva dostupne su najnovije spoznaje o molekularnim mehanizmima različitih farmakogena i njihovoj ulozi u farmakoterapiji. Korisnici mogu pretraživati bazu prema genima, njihovim varijantama, biokemijskim putovima te lijekovima i bolestima.

Premda je utvrđena jasna poveznica između genskih poli-

morfizama i učinkovitosti te toksičnosti određenih lijekova, prijenos znanja i implementacija farmakogenomike u kliničkoj svakodnevnoj praksi zaostaju za tim spoznajama. Jaz između jasnih dokaza te prihvaćanja i primjene novih farmakogenetičkih testova nastoji se prebroditi razvojem uputa i smjernica temeljenih na konsenzusu te edukacijom zdravstvenih profesionalaca. Radi prikupljanja i implementacije znanja ustanovljen je i konzorcij pod nazivom *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC), <https://cpicpgx.org/> kao zajednički projekt *The Pharmacogenomics Knowledge Base* (PharmGKB) i *The Pharmacogenomics Research Network* (PGRN) koji je okupio eminentne stručnjake iz područja farmakogenetike/farmakogenomike. Glavni je cilj CPIC-a izdavanje recenziranih, ažuriranih, temeljenih na dokazima, slobodno dostupnih uputa i smjernica za primjenu lijeka prema rezultatu farmakogenetičkih analiza. Te će smjernice svakako ubrzati prijenos znanja do kreveta bolesnika (38, 39). U tablici 1. prikazan je skraćeni tekst primjera smjernica i preporuka za doziranje lijeka prema genotipu. Što se tiče budućnosti razvoja farmakogenetike/farmako-

genomike, najnovija istraživanja upućuju na moguću ulogu velikog broja rijetkih oblika farmakogena jer se procjenjuje da oni čine 30 – 40% funkcionalne varijabilnosti farmakogena. Smatra se da bi metodologija temeljena na sekvenciranju sljedeće generacije (engl. *Next-Generation Sequencing* – NGS) mogla biti isplativ pristup primjenjiv za rutinsku genotipizaciju u kliničkoj praksi (40). Ipak, još je dosta izazova i na tehničkoj razini i u tumačenju rezultata te etičkih pitanja koja treba riješiti kako bi se omogućila primjena ove metodologije u farmakogenomici, a koja bi uključivala i rijetke genske varijacije. Stoga je trenutačno stajalište struke vezano uz farmakogenetička testiranja ovo: preventivno farmakogenetičko testiranje ograničeno je na potvrđene varijante gena, dok se analize svih polimorfizama trebaju primijeniti samo za retrospektivne analize pacijenata koji su iskusili nepredviđene, jake reakcije na lijekove.

U tablici 2. prikazana je učestalost najčešćih genotipova i prediktivnih fenotipova enzima CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 i CYP3A5 u hrvatskoj populaciji, a koji se analiziraju u rutinskoj dijagnostici za kliničku primjenu.

TABLICA 1. Primjeri smjernica i preporuka za doziranje lijeka prema genotipu

LIJEK	GEN	PREPORUKA	IZVOR
abakavir	HLA-B	Abakavir se ne preporučuje u osoba s varijantnim alelom HLA-B*57:01, a primjenu treba uzeti u obzir samo u iznimnim okolnostima.	CPIC
alopurinol	HLA-B	Alopurinol je kontraindiciran u osoba s alelom HLA-B*58:01 zbog znatno povećanog rizika od SCAR-a.	CPIC
karbamazepin	HLA-B	Karbamazepin se ne preporučuje za osobe koje imaju barem jedan varijantni alel HLA-B*15:02 povezan s povećanim rizikom od SJS-a i TEN-a pri primjeni karbamazepina u populacijama azijskog podrijetla.	CPIC
atazanavir	UGT1A1	U sporih metabolizatora za UGT1A1 treba razmotriti uvođenje alternativnog lijeka posebno u bolesnika s izraženom hiperbilirubinemijom koja može imati kliničke posljedice.	CPIC
azatioprin	TPMT	Razmotriti uvođenje alternativne terapije ili ekstremno sniženje doze u bolesnika s niskom ili odsutnom aktivnosti TPMT-a (homozigoti za nefunkcionalne alele). Započeti s 30 – 70% ciljane doze u bolesnika heterozigotnih nositelja nefunkcionalnih alela.	CPIC
boceprevir, peginterferon alfa-2a, peginterferon alfa-2b, ribavirin, telaprevir	IFNL3	IFNL3 (IL28B) varijante (rs12979860) najjači su bazni prediktor odgovora na liječenje koje uključuje PEG-interferon-alfa u bolesnika s HCV-genotipom 1. Pacijenti s povoljnim genotipom (CC) rs12979860 imaju povećane izgleda za učinkovitost terapije u odnosu prema bolesnicima s nepovoljnim genotipom (rs12979860 CT ili TT).	CPIC

▼ NASTAVAK TABLICE NA SLJEDEĆOJ STRANICI ▼

LIJEK	GEN	PREPORUKA	IZVOR
citalopram, escitalopram		<p>U slučaju sporih metabolizatora za CYP2C19 treba razmotriti sniženje preporučene doze 50%, titrirati dozu prema učinkovitosti ili odabrati alternativni lijek koji se dominantno ne metabolizira putem CYP2C19.</p> <p>U upozorenju koje navodi FDA za citalopram ističe se da je za spore metabolizatore putem CYP2C19, 20 mg/dan maksimalna preporučena doza zbog rizika od prolongacije QT-intervalu. Nadalje, u uputama FDA ističe se da se doza citaloprama treba ograničiti na 20 mg/dan u bolesnika s oštećenjem jetara, konkomitantne primjene inhibitora CYP2C19 i osoba starijih od 60 godina.</p>	CPIC
kapecitabin, fluorouracil, tegafur	DPYD	Smjernice za doziranje fluoropirimidina (5-fluorouracil, kapecitabin ili tegafur) preporučuju upotrebu alternativnog lijeka za pacijente koji su homozigoti za DPYD nefunkcionalne varijante (*2A rs3918290, *13 rs55886062 i rs67376798) zbog deficita enzima DPD-a. Treba razmotriti 50%-tno sniženje početne doze za heterozigotne bolesnike.	CPIC
klopidogrel	CYP2C19	Smjernice za doziranje klopidogrela preporučuju alternativnu antitrombotičnu terapiju (npr., prasugrel, tikagrelor) u slučaju slabih ili srednje brzih metabolizatora putem CYP2C19 ako ne postoje kontraindikacije.	CPIC
kodein	CYP2D6	Preporučuju se alternativni analgetici u slučaju vrlo brzih i slabih metabolizatora za CYP2D6 (ne tramadol ili oksikodon).	CPIC
haloperidol	CYP2D6	Sniziti dozu haloperidola 50% ili odabrati neki drugi lijek za pacijente koji imaju genotip slabih/sporih metabolizatora za CYP2D6.	DPWG
irinotekan	UGT1A1	Sniziti početnu dozu irinotekana u bolesnika koji su homozigoti za UGT1A1*28 i koji su primali više od 250 mg/m ² lijeka.	DPWG
ivakaftor	CFTR	Liječenje ivakaftorom preporučuje se za bolesnike s cističnom fibrozom (CF) koji su ili homozigoti ili heterozigoti za varijante G551D-CFTR (rs75527207 genotip AA ili AG). U bolesnika koji su homozigoti za F508del-CFTR (F508del / F508del, rs113993960 ili rs199826652 genotip del / DEL) ivakaftor se ne preporučuje. Najnoviji podaci navode mogućnost upotrebe ivakaftora u homozigota ili heterozigota za neku od ovih varijanata CFTR-a: G1244E (rs267606723 genotip AA ili AG), G1349D (rs193922525 genotip AA ili AG), G178R (rs80282562 genotip AA ili AG), G551S (rs121909013 genotip AA ili AG), S1251N (rs74503330 genotip AA ili AG), S1255P (rs121909041 genotip CC ili CT), S549N (rs121908755 genotip AA ili AG), S549R (rs121909005 genotip GG ili GT, rs121908757 genotip AC ili CC), R117H (rs78655421 genotip AA ili AG).	CPIC

▼ NASTAVAK TABLICE NA SLJEDEĆOJ STRANICI ▼

LIJEK	GEN	PREPORUKA	IZVOR
paroksetin	CYP2D6	Spori metabolizatori imaju povećan rizik od razvoja nuspojava zbog viših koncentracija paroksetina u plazmi. Preporuka je odabrati alternativni SSRI koji se znatnije ne metabolizira putem CYP2D6. Ako je nužno primijeniti paroksetin, preporuka je sniziti početnu dozu 50% i pratiti učinak.	CPIC
sertralin	CYP2C19	U slučaju sporih metabolizatora preporuka je sniziti početnu dozu 50% ili odabrati alternativni lijek koji se dominantno ne metabolizira putem CYP2C19.	CPIC
simvastatin	SLCO1B1	Za homozigotne nositelje varijantnog alela SLCO1B1 521C, rs4149056 FDA ne preporučuje doze od 80 mg simvastatina na dan. Za heterozigote postoji umjereno povećanje rizika od razvoja miopatije pri nižim dozama (40 mg simvastatina na dan); ako se ne postigne optimalna djelotvornost, treba razmotriti uvođenje alternativnog lijeka. Povezanost rs4149056 s miopatijom kod primjene drugih statina slabije je dokumentirana.	CPIC
tamoksifen	CYP2D6	U slabih i srednje brzih metabolizatora za CYP2D6 treba razmotriti uporabu inhibitora aromataze za žene u postmenopauzi, zbog povećanog rizika od relapsa raka dojke uz terapiju tamoksifenom. Kod srednje brzih metabolizatora treba izbjegavati istodobnu upotrebu inhibitora CYP2D6.	DPWG
takrolimus	CYP3A5	Za ekspresore CYP3A5 (oko 10% bjelačke populacije) preporučljivo je povisiti početnu preporučenu dozu 1,5 – 2 puta (ne preko 0,3 mg/kg/dan). Valja terapijski pratiti koncentracije lijeka (TDM) za daljnju prilagodbu doze.	CPIC
TCA (triciklički antidepresivi)	CYP2D6	U slučaju intermedijarnih metabolizatora preporuka je sniziti preporučenu početnu dozu 25%, a u slučaju sporih metabolizatora za CYP2D6 preporučljivo je odabrati alternativni lijek koji nije supstrat CYP2D6. Ako se TCA ipak primjenjuju, nužno je sniziti dozu 50% i pratiti terapijske koncentracije lijeka (TDM). Za vrlo brze metabolizatore zbog moguće neučinkovitosti također je preporučljivo odabrati alternativni lijek. Ako se primijene TCA, potrebne su više doze i TDM.	CPIC
varfarin	CYP2C9 VKORC1	Najbolji način za procjenu stabilne doze varfarina jest rabiti algoritme dostupne na: http://www.warfarindosing.org .	CPIC
vorikonazol	CYP2C19	U bolesnika koji su nositelji barem jednog alela visoke aktivnosti CYP2C19*17 preporučuje se odabrati alternativni lijek manje ovisan o metabolizmu putem CYP2C19. Takva sredstva uključuju isavukonazol, liposomski amfotericin B i posakonazol. Ako je vorikonazol nužno primijeniti u sporih metabolizatora, treba dati niže doze od preporučenih uz terapijsko praćenje koncentracija.	CPIC

TABLICA 2. Učestalosti genotipova i prediktivnih fenotipova CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 i CYP3A5 u hrvatskoj populaciji (prema ref. 41)

Gen	Broj ispitanika (n)	Genotip	Broj ispitanika (n)	Učestalost (%)	Prediktivni fenotip
CYP2C9	1080	*1/*1	645	59,72	EM
		*1/*2	254	23,52	IM
		*1/*3	138	12,78	IM
		*2/*2	19	1,76	PM
		*2/*3	21	1,94	PM
		*3/*3	3	0,28	PM
CYP2C19	1002	*1/*1	361	36,03	EM
		*1/*2	196	19,56	IM
		*2/*2	24	2,40	PM
		*1/*17	314	31,34	UM
		*17/*17	54	5,39	UM
		*2/*17	53	5,29	IM
CYP2D6	501	*1/*1	282	56,29	EM
		*1/*3	19	3,79	IM
		*1/*4	133	26,54	IM
		*4/*4	19	3,79	PM
		*3/*4	5	1,00	PM
		*1/*6	9	1,80	IM
		*6/*6	1	0,20	PM
		*3/*6	1	0,20	PM
		*4/*6	1	0,20	PM
		*1/*5	9	1,80	IM
		*1 xN	16	3,19	UM
		*1/*4 xN	5	1,00	nedefinirano
		*4/*4 xN	1	0,20	PM
CYP3A4	292	*1/*1	284	97,26	EM
		*1/*1B	8	2,74	UM
		*1B/*1B	0	0	UM
CYP3A4	300	*1/*1	284	94,67	EM
		*1/*22	16	5,33	IM
		*22/*22	0	0	PM
CYP3A5	300	*1/*1	1	0,33	ekspresor
		*1/*3	25	8,33	ekspresor
		*3/*3	274	91,34	neekspresor

Kratice: EM (brzi metabolizator), IM (srednje brzi metabolizator), PM (spori/slabi metabolizator), UM (vrlo brzi metabolizator)

LITERATURA

1. Spear BB, Heath-Chiozzi M, Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med* 2001;7:201–4.
2. Ingelman-Sundberg M, Cascorbi I. Pharmacogenomic or -epigenomic biomarkers in drug treatment: Two sides of the same medal? *Clin Pharmacol Ther* 2016;99:478–80.
3. Alfirevic A, Neely D, Armitage J i sur. Phenotype standardization for statin-induced myotoxicity. *Clin Pharmacol Ther* 2014;96:470–6.
4. Teschke R, Schwarzenboeck A, Hennermann KH. Causality assessment in hepatotoxicity by drugs and dietary supplements. *Br J Clin Pharmacol* 2008;66:758–66.
5. Yip VL, Alfirevic A, Pirmohamed M. Genetics of immune-mediated adverse drug reactions: a comprehensive and clinical review. *Clin Rev Allergy Immunol* 2015;48:165–75.
6. Alfirevic A, Pirmohamed M. Drug-induced hypersensitivity reactions and pharmacogenomics: past, present and future. *Pharmacogenomics* 2010;11:497–9.
7. Tohkin M, Ishiguro A, Kaniwa N, Saito Y, Kurose K, Hasegawa R. Prediction of severe adverse drug reactions using pharmacogenetic biomarkers. *Drug Metab Pharmacokinet* 2010;25:122–3.
8. Phillips KA, Veenstra DL, Oren E, Lee JK, Sadee W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *JAMA* 2001;286:2270–9.
9. Bozina N, Bradamante V, Lovrić M. Genetic polymorphism of metabolic enzymes P450 (CYP) as a susceptibility factor for drug response, toxicity, and cancer risk. *Arh Hig Rada Toksikol* 2009;60:217–42.
10. Johansson I, Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphism and toxicology-with emphasis on cytochrome p450. *Toxicol Sci* 2011;120:1–13.
11. Sim SC, Kacevska M, Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenomics of drug-metabolizing enzymes: a recent update on clinical implications and endogenous effects. *Pharmacogenomics J* 2013;13:1–11.
12. Stingl JC, Bartels H, Viviani R i sur. Relevance of UDP-glucuronosyltransferase polymorphisms for drug dosing: A quantitative systematic review. *Pharmacol Ther* 2014;141:92–116.
13. Potočnjak I, Likić R, Šimić I i sur. Dapsone-induced agranulocytosis - possible involvement of low activity N-acetyltransferase. *Fundam Clin Pharmacol* 2017 Mar 21. doi: 10.1111/fcp.12287.
14. Bruhn O, Cascorbi I. Polymorphisms of the drug transporters ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC3 and their impact on drug bioavailability and clinical relevance. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2014;10:1337–54.
15. Franke RM, Gardner ER, Sparreboom A. Pharmacogenetics of drug transporters. *Curr Pharm Des* 2010;16:220–30.
16. Cascorbi I. P-glycoprotein: tissue distribution, substrates, and functional consequences of genetic variations. *Handb Exp Pharmacol* 2011;201:261–83.
17. Breitenstein B, Scheuer S, Brückl TM i sur.. Association of ABCB1 gene variants, plasma antidepressant concentration, and treatment response: Results from a randomized clinical study. *J Psychiatr Res* 2016;73:86–95.
18. Voora D, Shah SH, Spasojevic I i sur. The SLCO1B1*5 genetic variant is associated with statin-induced side effects. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:1609–16.
19. DeGorter MK, Xia CQ, Yang JJ, Kim RB. Drug transporters in drug efficacy and toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2012;52:249–73.
20. Mallal S, Phillips E, Carosi G i sur. PREDICT-1 Study Team. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med* 2008;358:568–79.
21. Leckband SG, Kelsoe JR, Dunnenberger HM i sur. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for HLA-B genotype and carbamazepine dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2013;94:324–8.
22. Yip VL, Marson AG, Jorgensen AL, Pirmohamed M, Alfirevic A. HLA genotype and carbamazepine-induced cutaneous adverse drug reactions: a systematic review. *Clin Pharmacol Ther* 2012;92:757–65.
23. Ghattaoraya GS, Middleton D, Santos EJ, Dickson R, Jones AR, Alfirevic A. Human leucocyte antigen-adverse drug reaction associations: from a perspective of ethnicity. *Int J Immunogenet* 2017;44:7–26.
24. Stephens C, Andrade RJ, Lucena MI. Mechanisms of drug-induced liver injury. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2014;14:286–92.
25. Grove JI, Aithal GP. Human leukocyte antigen genetic risk factors of drug-induced liver toxicology. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2015;11:395–409.
26. Daly AK, Aithal GP, Leathart JB, Swainsbury RA, Dang TS, Day CP. Genetic susceptibility to diclofenac-induced hepatotoxicity: contribution of UGT2B7, CYP2C8, and ABCC2 genotypes. *Gastroenterology* 2007;132:272–81.
27. Krasniqi V, Dimovski A, Domjanović IK, Bilić I, Božina N. How polymorphisms of the cytochrome P450 genes affect ibuprofen and diclofenac metabolism and toxicity. *Arh Hig Rada Toksikol* 2016;67:1–8.
28. Roy PD, Majumder M, Roy B. Pharmacogenomics of anti-TB drugs-related hepatotoxicity. *Pharmacogenomics* 2008;9:311–21.
29. Andrade RJ, Agúndez JA, Lucena MI, Martínez C, Cueto R, García-Martín E. Pharmacogenomics in drug induced liver injury. *Curr Drug Metab* 2009;10:956–70.
30. Cascorbi I, Tyndale R. Progress in pharmacogenomics: bridging the gap from research to practice. *Clin Pharmacol Ther* 2014;95:231–5.
31. Šimić I, Potočnjak I, Kraljičković I i sur. CYP2D6 *6/*6 genotype and drug interactions as cause of haloperidol-induced extrapyramidal symptoms. *Pharmacogenomics* 2016;17:1385–9.
32. Koršić M, Muršić D, Badovinac S i sur. Erlotinib-related rhabdomyolysis: the role of pharmacogenetics and drug-drug interaction. *Cancer Chemother Pharmacol* 2015;76:1317–9.
33. Ong FS, Das K, Wang J i sur. Personalized medicine and pharmacogenetic biomarkers: progress in molecular oncology testing. *Expert Rev Mol Diagn* 2012;12:593–602.
34. Ehmann F, Caneva L, Papaluca M. European Medicines Agency initiatives and perspectives on pharmacogenomics. *Br J Clin Pharmacol* 2014;77:612–7.
35. Ehmann F, Caneva L, Prasad K i sur. Pharmacogenomic informa-

- tion in drug labels: European Medicines Agency perspective. *Pharmacogenomics J* 2015;15:201–10.
36. PharmGKB annotates drug labels containing pharmacogenetic information approved by the US Food and Drug Administration (FDA), European Medicines Agency (EMA), Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, Japan (PMDA) and Health Canada (Santé Canada) (HCSC). Dostupno na: <https://www.pharmgkb.org/view/drug-labels.do> (Last modified on Mar 29, 2017). Datum pristupa: 7. 4. 2017.
37. Guideline on key aspects for the use of pharmacogenomic methodologies in the pharmacovigilance evaluation of medicinal products. Date for coming into effect 1 April 2016. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/11/WC500196800.pdf. Datum pristupa: 7. 4. 2017.
38. Caudle KE, Klein TE, Hoffman JM i sur. Incorporation of Pharmacogenomics into Routine Clinical Practice: the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline Development Process. *Curr Drug Metab* 2014;15:209–17.
39. Swen JJ, Nijenhuis M, de Boer A i sur. Pharmacogenetics: from bench to byte—an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther* 2011;89:662–73.
40. Lauschke VM, Ingelman-Sundberg M. Requirements for comprehensive pharmacogenetic genotyping platforms. *Pharmacogenomics* 2016;17:917–24.
41. Ganoci L, Božina T, Mirošević Skvrce N, Lovrić M, Mas P, Božina N. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes: CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, and CYP3A5 in the Croatian population. *Drug Metab Pers Ther* 2017;32:11–21.

**ADRESA ZA DOPISIVANJE:**

Prof. dr. sc. Nada Božina, dr. med.
Klinički bolnički centar Zagreb
Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku
Odjel za farmakogenomiku i individualizaciju terapije
Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb
e-mail: nbozina@kbc-zagreb.hr

PRIMLJENO/RECEIVED:

4. 4. 2017./ April 4, 2017

PRIHVAĆENO/ACCEPTED:

1. 5. 2017./ May 1, 2017

