

Polimorfizam CYP2C19 u bolesnika s kardioembolijskim događajem

Tarle, Marko

Master's thesis / Diplomski rad

2015

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:112431>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-18**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Marko Tarle

**POLIMORFIZAM CYP2C19 U BOLESNIKA S KARDIOEMBOLIJSKIM
DOGAĐAJEM**
Diplomski rad



Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom prof. dr. sc. Nade Božina i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2014./2015.

Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu:

AK- arahidonska kiselina

AKS- akutni koronarni sindrom

CAR - (engl. *constitutive androstane receptor*), konstitutivni receptor za androstan

CBF - (engl. *cerebral blood flow*), moždani protok krvi

CYP - (engl. *cytochrome P450*), citokrom P450

EETs - (engl. *epoxsieicosatrienoic acids*), epoksieikosatrienoične kiseline

EPA - (engl. *eicosapentanoic acid*), eikopentanoična kiselina

ER - endoplazmatski retikulum

HALMED - Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode

HETE - hidroksieicosatetraenoična kiselina

HPETE - hidroperoksieikosatetraenoična kiselina

hs-CRP- (engl. *high-sensitivity C-reactive protein*), visoko osjetljivi C-reaktivni protein

IL-6 - interleukin 6

LAA - (engl. *large artery atherosclerosis*), ateroskleroza velikih arterija

LOX- (engl. *lipooxygenase*), lipooksigenaze

MFO - (engl. *mixed function oxidases*), oksidaze mješovite funkcije

MR- (engl. *metabolic ratio*), metabolički omjer

MU - moždani udar

PCI - (engl. *percutaneous coronary intervention*), perkutana koronarna intervencija

WHO - (engl. *World Health Organization*), Svjetska zdravstvena organizacija

wt - (engl. *wild type*), divlji tip

SADRŽAJ:

Sažetak

Summary

1. Uvod	1
2. Što su farmakogenomika i farmakogenetika?.....	3
3. Biotransformacija ksenobiotika i endogenih molekula.....	5
3.1. Prva faza hepatičke biotransformacije.....	6
3.1.1. Citokrom P450 (CYP P450).....	7
3.2. Druga faza hepatičke biotransformacije.....	11
3.3. Metabolizam arahidonske kiseline.....	11
3.3.1. Ciklooksigenazni put metabolizma arahidonske kiseline.....	12
3.3.2. Lipooksigenazni put metabolizma arahidonske kiseline.....	13
3.3.3. Metabolizam arahidonske kiseline putem CYP enzima.....	13
3.3.4. Izoeikosanoidni put metabolizma arahidonske kiseline.....	15
4. Genski polimorfizam.....	16
4.1. Polimorfizam gena <i>CYP</i>	16
4.1.1. Metode određivanja metaboličkog fenotipa.....	17
4.2. Citokrom P450 2C19 (<i>CYP2C19</i>) i polimorfizam gena <i>CYP2C19</i>	20
5. Kardioembolijski događaji.....	22
5.1. Moždani udar-cerebrovaskularni inzult.....	22
5.1.1. Definicija.....	22
5.1.2. Epidemiologija.....	22
5.1.3. Rizični čimbenici za razvoj moždanog udara.....	24
5.1.4. Klasifikacija moždanog udara.....	24
5.2. Patofiziologija ishemijskog moždanog udara.....	25
5.2.1. Kardioembolijski moždani udar.....	26
5.2.2. Patofiziologija kardioembolijskog moždanog udara.....	26
5.2.3. Uzroci kardioembolijskog moždanog udara.....	27
5.2.4. Fibrilacija atrijske.....	28
5.2.5. Sekundarna prevencija moždanog udara.....	30
6. Utjecaj polimorfizma <i>CYP2C19</i> na razvoj rizičnih čimbenika kardiovaskularnih bolesti i terapiju klopidogetrelom.....	31

5.2. Utjecaj polimorfizma CYP2C19 na razvoj hipertenzije i ateroskleroze te pojačane agregacije trombocita.....	31
6.1.1. Utjecaj polimorfizma <i>CYP2C19</i> na metabolizam arahidonske kiseline.....	31
6.2. Polimorfizam <i>CYP2C19</i> i antitrombocitni učinak klopido­gre­la.....	32
6.2.1. Klopido­gre­l.....	35
6.2.2. Polimorfizam <i>CYP2C19</i> i rizik od nepovoljnih kliničkih događaja u pacijenata tretiranih klopido­gre­lom.....	37
6.2.3. Interakcije lijekova supstrata CYP2C19.....	38
6. Zaključak	40
7. Zahvale	42
8. Literatura	43
9. Životopis	46

SAŽETAK

POLIMORFIZAM CYP2C19 U BOLESNIKA S KARDIOEMBOLIJSKIM DOGAĐAJEM

CYP2C19 je hemoprotein koji sudjeluje u prvoj fazi biotransformacije ksenobiotika i endogenih molekula te spada u veliku gensku obitelj *CYP2C*. U ukupnom udjelu metabolizma prve faze biotransformacije zajedno sa CYP2C9 čine 15 %. Lokus gena *CYP 2C19* nalazi se na kromosomu 10q24 i sastoji se od 9 egzona. Gen koji kodira ovaj enzim je polimorfan što je značajno za kliničku praksu jer enzim CYP2C19 sudjeluje u metabolizmu više važnih lijekova.

Genetički polimorfizam CYP2C19 česta je pojava u općoj populaciji sa značajnom međuetničkom varijabilnosti u učestalosti fenotipova. Tako je u bijeloj populaciji incidencija sporih metabolizatora 1-5%, 13-23% u azijata, 6% među Etiopljanima, te 70% među stanovništvom Vanuatu. Dosadašnja istraživanja navode zastupljenost *CYP2C19*2* i *CYP2C19*3* u 95 % osoba sporih metabolizatora. Najčešći polimorfni alel u bjelačkoj populaciji je alel *2C19*2*, a u azijskoj alel *2C19*3* koji kodiraju inaktivni enzim.

Bitniji protektivni čimbenici u očuvanju integriteta endotela krvnih žila i hemostaze su produkti arahidonske kiseline (AK) poput epoksieikosatrienoične kiseline (EET) koja nastaje metabolizmom AK putem enzima CYP. Mutirani aleli *CYP2C19*2* i *CYP2C19*3* kodiraju enzim sa smanjenom katalitičkom funkcijom što dovodi do smanjenja koncentracije EETs-a i porasta koncentracije proupalnih citokina (IL-6 i hs-CRP) posljedično tome do ubrzanog razvoja i progresije ateroskleroze koja je glavni etiološki čimbenik kardiovaskularnih i neurovaskularnih bolesti (AKS, MU). Jedan od supstrata enzima CYP2C19 je i lijek klopidogetrel, koji sprječava agregaciju trombocita i razvoj tromboze stoga se koristi u primarnoj i sekundarnoj prevenciji kardiovaskularnih i kardioembolijskih događaja (npr. CE MU). Povećan rizik za razvoj tih poremećaja dovodi se u svezu s genetičkom rezistencijom na klopidogetrel kao posljedica prisutnosti bar jednog varijantnog alela *CYP2C19*2/*3*.

Ključne riječi: CYP2C19, arahidonska kiselina, polimorfizam, EET, klopidogetrel, kardioembolijski događaj

SUMMARY

POLYMORPHISM OF CYP2C19 IN PATIENTS WITH CARDIOEMBOLIC EVENT

CYP2C19 is a hemoprotein participating in the first phase of biotransformation of xenobiotics and endogenous molecules and represents a large gene family *CYP2C*. The total share of the first phase of metabolic biotransformation with CYP2C9 make up 15%. *CYP2C19* gene locus is located on chromosome 10q24 and consists of 9 exons. The gene encoding this enzyme is polymorphic and it is important for clinical practice because of the CYP2C19 enzyme involved in the metabolism of several important drugs.

Genetic polymorphism of *CYP2C19* is common in the general population with significant inter-ethnic variability in phenotype distribution. The incidence of slow metabolizers is 1-5%, 13-23%, 6% and 70% in Caucasian, Asian, Ethiopian, and Vanuatu population respectively. Previous researches suggest the presence of *CYP2C19**2 and *CYP2C19**3 in 95% of slow metabolizers. The most common polymorphic allele in the Caucasian population is allele 2C19*2 and 2C19*3 allele in Asian population encoding the inactive enzyme.

Some of the most important protective factors in preserving the integrity of endothelium in blood vessels and hemostasis are products of arachidonic acid (AA), such as epoxieicosatrienoic acid that is metabolised by CYP enzymes. Mutant alleles *CYP2C19**2 and *CYP2C19**3 encode an enzyme with reduced activity that results in reduced concentration of EETs and increased concentration of proinflammatory cytokines (IL-6 and hs-CRP) consequently leading to rapid development and progression of atherosclerosis, which is a major etiologic factor of cardiovascular and neurovascular diseases (ACS, stroke). One of the substrates of CYP2C19 enzyme is antiplatelet drug clopidogrel, which prevents the development of thrombosis and is used in primary and secondary prevention of cardiovascular and cardioembolic events (eg. CE MU). Increased risk of these disorders is brought into connection with genetic resistance to clopidogrel as a result of the presence of at least one variant allele *CYP2C19* *2 / *3.

Keywords: CYP2C19, arachidonic acid, polymorphism, EETs, clopidogrel, cardioembolic event

1. UVOD

Moderna medicina usmjerava terapiju prema najširoj populaciji bolesnika koji od nje mogu imati koristi, oslanjajući se na statističke analize u predviđanju ishoda liječenja u individualnim slučajevima. Problem je u tome što isti lijek može biti učinkovit za jednu skupinu, a potpuno neučinkovit za drugu; kod nekih može dovesti do razvoja nuspojava dok kod drugih ne.

Interindividualna varijabilnost u odgovoru na neki lijek je vrlo česta i ovisi o kliničkim, okolišnim i genetičkim čimbenicima. Upravo je iz tog razloga razvijena nova grana farmakologije, farmakogenetika/farmakogenomika, čiji je temelj djelovanja prepoznavanje genetičkih interindividualnih razlika u odgovoru na lijekove, proučavanje molekularnih mehanizama koji dovode do tih varijabilnosti te odabir najprikladnijeg lijeka i doze za svakog pojedinog bolesnika (optimalizacija i individualizacija farmakoterapije). Polimorfni metabolički enzimi iz natporodice citokroma P450(CYP) i prijenosni proteini iz natporodice ABC imaju važnu ulogu u selektivnoj apsorpciji, metabolizmu, tkivnoj distribuciji i eliminaciji, te predstavljaju važne predmete proučavanja u farmakogenetici/ farmakogenomici.

Svrha ovog preglednog diplomskog rada je prikazati na koji način polimorfizam enzima CYP utječe na metabolizam ksenobiotika i endogenih molekula te koje implikacije takav metabolizam ima na organizam u vidu učinkovitosti, komplikacija i prognoze ishoda terapije te razvoja bolesti. Zbog opširnosti tematike, ovaj rad usmjeren je isključivo na polimorfizam *CYP2C19* te njegovu ulogu u razvoju ateroskleroze kao glavnog pokretača većine kardiovaskularnih bolesti među kojima su neke temelj razvoja kardioembolijskih događaja sa posljedičnim razvojem ishemije organa, napose mozga.

U primarnoj i sekundarnoj prevenciji kardiovaskularnih i neurovaskularnih poremećaja glavno mjesto zauzima klopidoogrel koji inhibirajući agregaciju trombocita smanjuje rizik nastanka tromboze. Klopidoogrel je glavni supstrat enzima *CYP2C19* i u osoba sa promijenjenom aktivnošću tog enzima, koncentracija aktivnog metabolita nije optimalna što dovodi do smanjene protektivne uloge klopidoogrela u prevenciji.

Učestalost polimorfizma gena *CYP2C19* u populaciji je vrlo velika, pogotovo među azijatima što nam govori koliko je važno indetificirati ih i prilagoditi terapiju prema nalazima genotipizacije i time u velikoj mjeri možemo dovesti do smanjenja incidencije kardiovaskularnih i kardioembolijskih događaja te posljedično tome do smanjenja invalidnosti, poboljšanja kvalitete života te produljenja života.

Rad je sastavljen od četiri glavne cjeline. Prva se odnosi na razvoj, značenje i budućnost farmakogenetike/ farmakogenomike kao novije grane farmakologije. Druga cjelina usmjerena je na faze hepatičke biotransformacije ksenobiotika i endogenih molekula s posebnim naglaskom na prvu fazu biotransformacije posredovanu enzimima CYP. Nakon toga objašnjava se pojam kardioembolijski događaj te koja mu je etiologija i do kojih posljedica dovodi usmjeravajući se na ishemijski moždani udar. Zadnja cjelina govori o važnosti i utjecaju polimorfizma *CYP2C19* na razvoj rizičnih čimbenika kardiovaskularnih i neurovaskularnih bolesti te na terapiju klopidogetrelom.

Naposljetku je, u zaključku, još jednom istaknuta važnost identifikacije polimorfizma *CYP2C19* te važnost potrebe „prenošenja“ spoznaja farmakogenetike iz laboratorija do bolesničkih postelja.

2. ŠTO SU FARMAKOGENETIKA I FARMAKOGENOMIKA?

Humana genetika je znanost koja se bavi proučavanjem nasljeđivanja u ljudi. Razvila se s ciljem proučavanja interindividualnih genetičkih varijacija, a pritom je usmjerena na 0,1% genoma koji svaku individuu čini genetički jedinstvenom s obzirom da se danas pouzdano zna kako su ljudi 99,9% slični na razini DNA.

Od 1950. godine farmakogenetika postoji kao zasebna znanost, kada je primijećeno da neke neželjene reakcije na lijekove mogu biti posljedica nasljeđa, što znači da genske varijacije mogu utjecati na aktivnost enzima. Zamijećeno je kako neki bolesnici imaju visoke ili niske koncentracije lijeka u plazmi ili u urinu unatoč primjeni istoga lijeka u jednakim dozama istim putem primjene. Jedan od prvih zabilježenih primjera odnosio se na pacijente s nedostatkom aktivnosti glukoza-6-fosfat-dehidrogenaze koji su razvili hemolizu eritrocita poslije terapije antimalaricima. Ovakva otkrića označila su početak farmakogenetike koja je danas zastupljena u mnogim poljima, uključujući kreiranje novih lijekova i terapijskih smjernica.

Posljednjih 50 godina mnogobrojna otkrića usmjerila su istraživanja prema otkrivanju interindividualnih varijabilnosti u odgovoru na farmakoterapiju. Kao jedan od uzroka nepredvidivih reakcija lijeka na temelju njegovih farmakoloških osobina-idiosinkrazija, 1957. godine opisana je genetička osnova i nedostatak enzima. 1959. Fridrih Vogel uveo je termin "farmakogenetika", opisujući ga kao "klinički važnu nasljednu varijaciju u odgovoru na lijekove". Werner Kelou je 1962. objavio prvu knjigu o farmakogenetici, a 1977. je opisana polimorfna hidroksilacija debrisoquina kod ljudi dok je 1988. utvrđen defekt gena *CYP2D6*, zajednički za bolesnike sa poremećenim metabolizmom debrisoquina.

2003. godine kompletiran je „The Human Genome Project“, koji otvara vrata u otkrivanju velikog broja polimorfizama te mogućnosti individualizacije i optimalizacije medikamentne terapije kao i mogućnosti rješavanja etiologije nerazjašnjenih bolesti.¹

Konačan ishod farmakoterapije primarno ovisi o težini bolesti, komorbiditetima i konkomitantnoj terapiji te specifičnim faktorima kao što su dob i spol. Osim tih varijabli velik utjecaj na ishod farmakoterapije imaju i varijabilna bioraspoloživost lijeka zbog različite apsorpcije, distribucije, metabolizma i izlučivanja te različitosti u izražaju i funkciji krajnjih ciljeva djelovanja lijeka, poput receptora, što uvelike ovisi o genetičkom ustrojstvu pojedinaca.

Moderna definicija farmakogenetike i farmakogenomike kao znanstvene discipline naglašava njihovu glavnu ulogu u otkrivanju genetičkih varijabilnosti koje utječu na

djelotvornost lijeka te pronalaženju osoba s povećanim rizikom za podložnost razvoju nuspojava. Dok se farmakogenetika bavi ispitivanjem jedne ili nekoliko genetičkih varijabli, farmakogenomika ispituje mnogo gena s utjecajem na učinkovitost i nuspojave. To sve ne bi bilo moguće bez brojnih istraživanja identifikacije genetički kontroliranih varijabilnosti odgovora na lijekove, proučavanja molekularnih mehanizama koji dovode do tih varijabilnosti, evaluacija njihove kliničke važnosti te odabira metoda za otkrivanje osoba s tim varijacijama prije početka same farmakoterapije. Stoga se može reći da su klinički čimbenici, čimbenici iz okoline i genetičke varijacije bitni u odabiru najprikladnijeg lijeka i doze za svakog pojedinog bolesnika.¹⁻²

Dosadašnja istraživanja nam govore kako polimorfni metabolički enzimi iz natporodice citokroma P450(CYP) i prijenosni proteini iz natporodice ABC imaju važnu ulogu u selektivnoj apsorpciji, metabolizmu, tkivnoj distribuciji i eliminaciji.

Iz svega navedenog može se zaključiti da je temeljni cilj farmakogenomike primjena genetičkih informacija za stvaranje postupnika za odabir najprikladnijeg lijeka za svakoga pojedinog bolesnika ili skupine bolesnika, odnosno individualizacija i optimizacija terapije, te maksimalno smanjenje broja nepredvidivih nuspojava, od kojih se neke nazivaju idiosinkratske reakcije.

U Republici Hrvatskoj postoji nekoliko centara u kojima se provodi strategija za identifikaciju slučajeva u kojima se sumnja na farmakogenetičku ulogu u patogenezi neke nuspojave. Riječ je o suradnji Agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED), Odsjeka za farmakovigilanciju (Nacionalnog centra za nuspojave) i Kliničke jedinice za farmakogenomiku i individualizaciju terapije u Kliničkom bolničkom centru Zagreb.

Premda se zna da postoji povezanost između genetičkih polimorfizama i djelotvornosti te toksičnosti lijekova, zapanjujući su podaci da se u Europi 7-13% bolesnika prima u bolnicu zbog neželjenih reakcija na lijek, a u nekim slučajevima od 30-50% bolesnika ne pokazuje učinkovit odgovor na farmakoterapiju, što nam ukazuje na činjenicu da farmakogenomika još uvijek nije u potpunosti zaživjela u kliničkoj praksi. Implementacijom u svakodnevnu praksu dovest će do niza pogodnosti kako na razvoj lijekova tako i na moguću novu primjenu lijekova koji nisu prošli određenu fazu kliničkog istraživanja a prikladni su za fenotipski definirane skupine.²

3. BIOTRANSFORMACIJA KSENOBIOTIKA I ENDOGENIH MOLEKULA

Tijekom cijelog života izlažemo se ksenobioticima, kemijskim stranim tvarima koje se ne stvaraju u organizmu, a mogu se apsorbirati putem kože, pluća, konzumacijom vode, hrane i sl. Izloženost ksenobioticima može biti namjerna (sredstva za terapijske i rekreacijske svrhe), slučajna ili neizbježna putem zraka, vode ili hrane. Mnogi ksenobiotici su neškodljivi, dok drugi u organizmu izazivaju biološke reakcije.

Središnju ulogu u izlučivanju i dovršavanju biološke aktivnosti različitih kemijskih spojeva ima bubreg. Ovim mehanizmom organizam se pokušava osloboditi od potencijalno štetnih tvari i njihovih metabolita. Međutim, ovdje postoji nekoliko ograničenja među kojima su najvažniji volumen molekule i njena polarnost. Samo tvari malog molekularnog volumena i one polarnog karaktera koje ioniziraju pri fiziološkom PH mogu biti izlučene iz organizma.

Svi ostali spojevi koji nemaju takva fizikalno-kemijska svojstva ili su vezani za proteine plazme prolaze biotransformaciju alternativnim putem kroz brojne organe od kojih je najvažnija jetra. Lipofilni ksenobiotici transformiraju se u hidrofilne polarnije molekule koje se zatim lako izlučuju.

Sam proces biotransformacije zbiva se u vremenu između apsorpcije lijeka u sistemnu cirkulaciju i njegove ekskrecije bubrezima. Sva tkiva u tijelu imaju mogućnost metaboliziranja lijekova od kojih neka pokazuju značajnu aktivnost. To su probavni sustav, koža, pluća, mozak, bubreg i jetra. Međutim većina biotransformacije ksenobiotika odvija se upravo u jetri. Velika količina lijekova se nakon oralne primjene nepromijenjena apsorbira iz tankog crijeva i portalnom cirkulaciom transportira u jetru gdje podliježe opsežnom metabolizmu što se naziva učinkom prvog prolaska (npr. morfin, izoproterenol). Neki se nakon oralne primjene u većem obujmu metaboliziraju u crijevima (npr. klonazepam, klorpromazin). Učinak prvog prolaska može značajno utjecati na bioraspoloživost lijeka, pa je za postizanje terapijske koncentracije bolje odabrati drugačiji način primjene lijeka.

Sve reakcije hepatičke biotransformacije mogu se svrstati u 2 osnovne kategorije nazvane reakcijama faze I (oksidacijska) i reakcijama faze II (konjugacijska).^{2,3}

3.1. PRVA FAZA HEPATIČKE BIOTRANSFORMACIJE

Prva faza biotransformacije odgovorna je za pretvorbu endogenih i egzogenih molekula u polarniji metabolit uvođenjem ili otkrivanjem funkcionalne skupine (-OH, -NH, -SH), što ih čini najčešće inaktivnima ili ponekad modificira njihovu aktivnost ili je čak i pojača. Većina transformacija kataliziraju specifični stanični enzimi smješteni u glatkom endoplazmatskom retikulumu (ER), mitohondrijima, citoplazmi, lizosomima, ovojnici jezgre ili u plazmatskoj membrani.

Mnogi enzimi prve faze nalaze se u glatkim mikrosomim, odnosno lipofilnoj membrani glatkog endoplazmatskog retikuluma (ER) te su odgovorni za oksidacijski metabolizam lijekova.

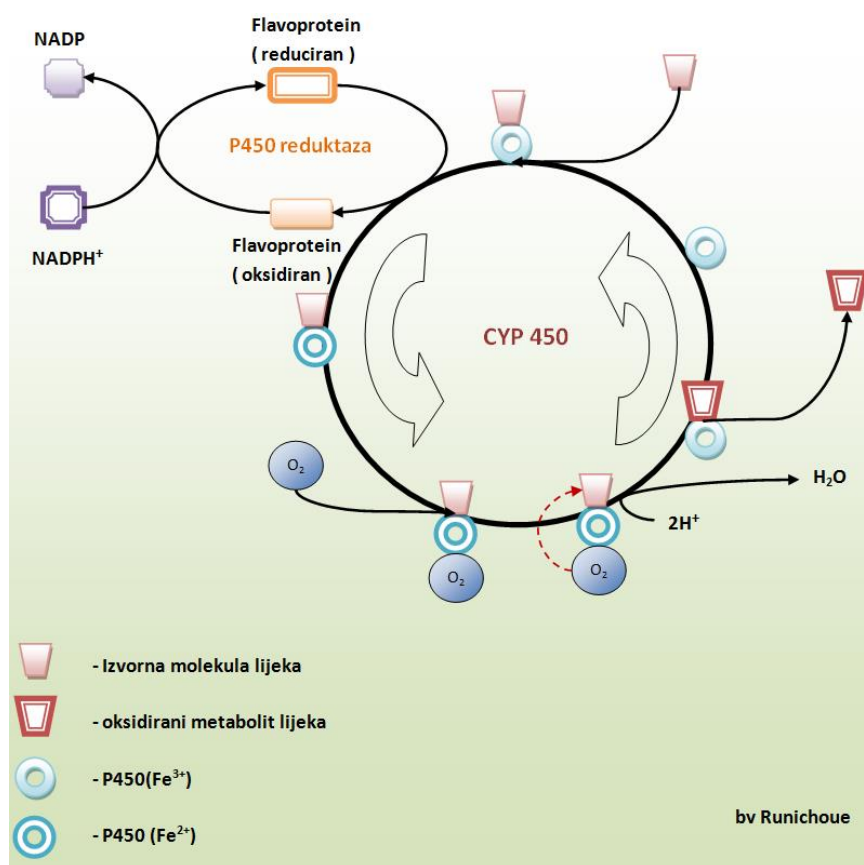
Za oksidaciju prve faze potrebna su četiri temeljne sastavnice od kojih su najvažnije oksidaze mješovite funkcije (MFO, engl. *mixed function oxidases*) ili monooksigenaze za čiju aktivnost je potreban nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat (NADPH) i molekularni kisik.

U monooksigenaze spadaju citokrom P450 reduktaza (sadržava FMN i FAD) i citokrom P450. Citokrom P450 je hemoprotein koji je dobio ime po svojim spektralnim svojstvima jer u reduciranom (fero) obliku veže ugljikov monoksid i stvara kompleks koji maksimalno apsorbira svjetlo na 450 nm. Količinski citokromi P450 prednjače u usporedbi s reduktazama stoga oni čine „rate-limiting“ u hepatičkoj oksidaciji lijekova.

Sama oksidacija teče u nekoliko koraka:

1. Oksidirani (feri) P450 udružuje se s lijekom supstratom i tvori binarni kompleks.
2. NADPH donira elektron za flavoprotein P450-reduktazu koja zauzvrat reducira oksidirani P450-lijek kompleks
3. Drugi se elektron uvodi iz NADPH posredovanjem P450 reduktaze koja služi za redukciju i za stvaranje kompleksa „aktivirani kisik“-P450-supstrat
4. Taj kompleks za uzvrat prenosi aktivirani kisik do lijeka supstrata i stvara oksidirani produkt

Valja napomenuti da su reakcije prve faze relativno spore zbog tromih katalizatora P450.^{2,3}



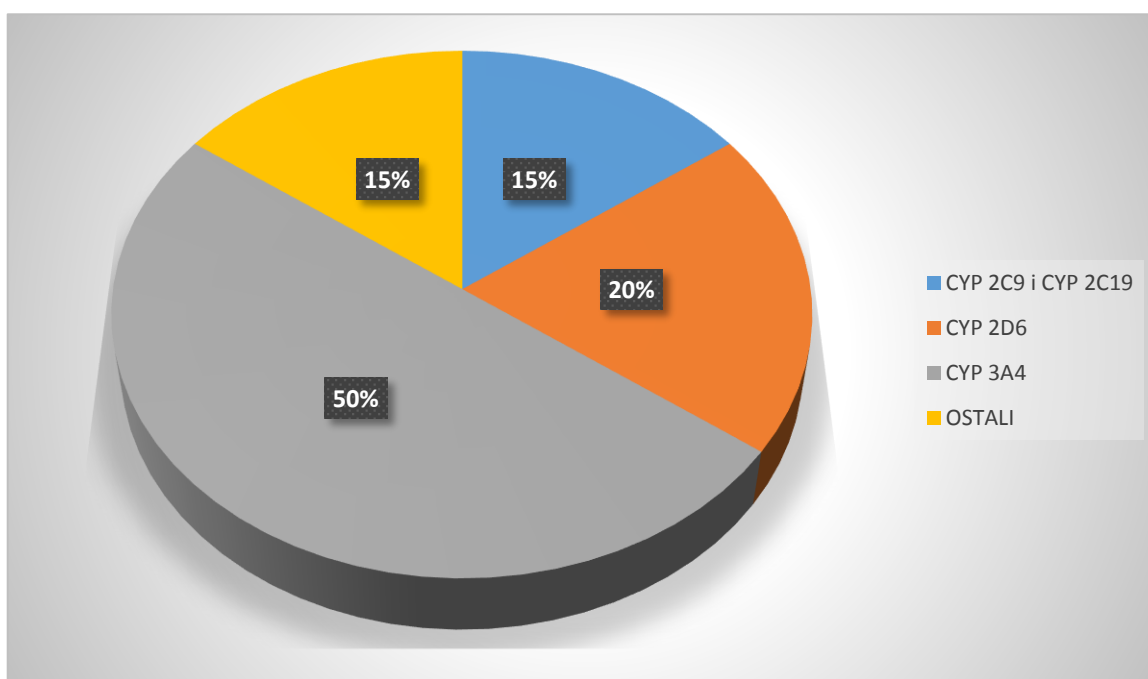
SLIKA 1. Ciklus citokroma P450 u oksidaciji lijeka.

Prema: http://perpetuum-lab.com.hr/wiki/plab_wiki/farmakologi/farmakokinetika-r284/

3.1.1. CITOKROM P450 (CYP)

Enzimi P450-CYP uključeni u biotransformaciju, svrstani su u tri glavne genske obitelji: *CYP1*, *CYP2*, *CYP3*. Postoji i *CYP4* čiji su supstrati neke masne kiseline i eikosanoidi te manji broj ksenobiotika.

Sekvenciranjem humanog genoma otkriveno je 115 različitih gena citokroma P450 od kojih je 57 funkcionalno. Među njima su najznačajniji *CYP2C9* (20%), *CYP2C19*, *CYP2D6* (5%), *CYP3A4* (30%), *CYP1A2* (15%), *CYP2E1* (10%). 50% lijekova metabolizira se pomoću *CYP3A4*, 20% *CYP2D6*, 15% *CYP2C9* i *CYP2C19*, a ostatak s pomoću *CYP2E1*, *CYP2A6*, *CYP1A2*.²⁻³



SLIKA 2. Udio pojedinih enzima CYP u metabolizmu klinički važnih lijekova.

Genetički i okolišni čimbenici određuju aktivnost i količinu enzima CYP u pojedine osobe. Tako smanjena aktivnost enzima može biti rezultat genskih mutacija koje blokiraju sintezu enzima. Određene bolesti (npr. diabetes melitus, hipotireoza, hipertireoza) i ksenobiotici također mogu suprimirati ekspresiju P450 ili već postojeće enzime inhibirati ili inaktivirati.²

Inhibicija citokroma P450 nekim lijekom može smanjiti metabolizam drugog lijeka koji katalizira isti enzim i time dovesti do povišene koncentracije lijeka u organizmu i povećanog ili smanjenog farmakološkog ili toksičnog učinka lijeka.

Genske duplikacije i izlaganje nekim vanjskim čimbenicima dovode do pretjerane ekspresije enzima P450 i njegove povećane aktivnosti. Jedan od primjera je indukcija CYP1A povrćem iz porodice Crucifereae (krstašice-poput kelja, kupusa, brokule i dr.) ili inhibitorom protonske pumpe omeprazolom. Kemikalije i onečišćivači iz okoliša poput benzopirena i drugih policikličkih aromatskih ugljikovodika prisutnih u dimu cigareta, mesu prženom na roštilju i drugim produktima nastalima organskom pirolizom također mogu inducirati enzime CYP1A i utjecati na brzinu metabolizma supstrata.³

Nekoliko receptora siročića (engl. *orphan receptors*) smještenih u jezgri stanice poput PXR (engl. *pregnane X receptor*), CAR i PPAR α (ksenosenzori) utjecajem različitih kemijskih spojeva tvore heterodimere sa jezgrinim receptorom za retinoide X (RXR, engl. *retinoid X receptor*) koji se veže za elemente odgovora unutar promotorske regije specifičnih gena P450 inducirajući njihovu ekspresiju. Tako receptor X za pregnan (PXR) posreduje indukciju CYP3A različitim kemijskim spojevima (deksametazon, rifampicin, mifepriston, fenobarbital, gospina trava i dr.) u jetri i crijevnoj sluznici. Konstitutivni receptori za androstan (CAR) također djelovanjem tvari poput fenobarbitala posreduju u indukciji CYP2C9, CYP2B6 i CYP3A4.

Smanjena degradacija citokroma P450, odnosno fenomen stabilizacije supstrata utjecajem brojnih tvari također možemo svrstati u indukciju enzima P450. Sličnim mehanizmima odvija se i inhibicija enzima P450, bilo kompetitivnim vezanjem za aktivno mjesto enzima bilo ireverzibilnom inhibicijom čiji se inhibitori popularno nazivaju samoubilački inhibitori.

Alelne varijante koje su rezultat mutacije u izvornom, divljem genu drugi su razlog individualnih varijabilnosti u aktivnosti enzima. Povećanje ili smanjenje enzimске aktivnosti također mogu uzrokovati supstitucije aminokiselina unutar enzima CYP.³

TABLICA 1. Humani jetreni P450 (CYP) i neki lijekovi koje metaboliziraju (supstrati), induktori i selektivni inhibitori.

Prema: Katzung, B., Temeljna i klinička farmakologija, Medicinska naklada, Zagreb, 2011., str. 58.

CYP	Supstrati	Induktori	Inhibitori
1A2	acetaminofen, antipirin, kofein, klomipramin, fenacetin, takrin tamoksifen, teofilin, varfarin	pušenje, hrana pržena na roštilju s ugljenom, povrće iz porodice krstašica, omeprazol	galangin, furafilin, fluvoksamin
2A6	kumarin, duhanski nitrozamini, nikotin	rifampin, fenobarbital	tranilcipromicin, mentofuran, metoksalen
2B6	artemizinin, bupropion, ciklofosfamin, efavirenz, ifosfamid, ketamin, S-mefobarbital, S-mefenitoin, metadon, nevirapin, propofol, selegilin, sertralin, tiklopidin	fenobarbital, ciklofosfamid	tiklopidin, klopidogetrel
2C8	taksol, all-trans-retinoična kiselina	rifampin, barbiturati	trimetoprim
2C9	celekoksib, flurbiprofen, heksobarbital, ibuprofen, losartan, fenitoin, tolbutamid, trimetadion, sulfafenazol, S-varfarin, tikrinafen	barbiturati, rifampin	tienilična kiselina, sulfafenazol
2C18	tolbutamid, fenitoin	fenobarbital	
2C19	diazepam, S-mefenitoin, naproksen, nirvanol, omeprazol, propranolol, clopidogrel	barbiturati, rifampin	N3-benzilnirvanol, N3-benzilfenobarbital, flukonazol
2D6	bufuranol, bupranolol, klomipramin, klozapin, kodein, debrisoquin, dekstrometorfan, enkalinid, flekainid, fluoksetin, gvanoksan, haloperidol, hidrokodein, 4-metoksiamfetamin, metoprolol, meksiletin, oksikodon, paroksetin, fenformin, propafenon, propoksifen, risperidon, selegilin, spartein, tioridazin, timolol, triciklički antidepresivi		kinidin, paroksetin
2E6	acetaminofen, klorzoksazon, enfluran, halotan, etanol	etanol, izoniazid	4-metilpirazol, disulfiram
3A4	acetaminofen, alfentanil, amiodaron, astemizol, cisaprid, kokain, kortizol, ciklosporin, dapson, diazepam, dihidroergotamin, dihidropiridini, diltiazem, eritromicin, etinil estradiol, gestoden, indinavir, lidokain, lovastatin, makrolidi, metadon, mikonazol, midazolam, mifepriston, nifedipin, paklitaksel, progesteron, kinidin, rapamicin, ritonavir, sakvinavir, spironolakton, sulfametoksazol, sufentanil, takrolimus, tamoksifen, terfenadin, testosteron, tetrahidrokanabinol, triazolam, troleandomicin, verapamil	barbiturati, karbamazepin, glukokortikoidi, pioglitazon, fenitoin, rifampin, gospina trava	azamulin, diltiazem, eritromicin, klaritromicin, flukonazol, sok od grejpa, itrakonazol, ketokonazol, ritonavir, troleandomicin

3.2. DRUGA FAZA HEPATičNE BIOTRANSFORMACIJE

Ako su nakon prve faze metaboliti dovoljno polarni mogu se odmah izlučiti iz organizma, no najčešće to nije slučaj pa prolaze kroz reakcije druge faze. Lijekovi ili njihovi metaboliti modificirani reakcijama prve faze biotransformacije ulazi u konjugacijske reakcije s nekom endogenom supstancijom tvoreći konjugate lijeka koji su inaktivni i polarni te se lako izlučuju iz tijela. Za proces konjugacije nužni su visokoenergetski međuprodukti i specifični prijenosni enzimi (transferaze) smješteni u citoplazmi ili mikrosomima.

Razlikujemo nekoliko vrsta konjugacijskih reakcija među kojima su najbitnije: glukuronidacija, acetilacija, konjugacija s glutationom, konjugacija s glicinom, sulfatacija, metilacija te konjugacija s vodom.

Ponekad biotransformacijom lijekova mogu nastati toksični metabolit fatalni za organizam. Najpoznatiji primjer je metabolizam acetaminofena u toksični metabolit N-acetilbenzoiminokinon koji je izrazito hepatotoksičan. Paracetamol (acetaminofen), popularni analgetik i antipiretik, obično podliježe glukuronidaciji i sulfataciji koje čine 95% njegova metabolizma, dok preostalih 5% čini konjugacija s glutationom (GSH) ovisna o P450. Ukoliko se premaši terapijska doza paracetamola zasite se glukuronidacijski i sulfatacijski putovi te metabolički put ovisan o P450 postaje najvažniji. Pošto brzina obnavljanja glutaciona ne može pratiti njegovu razgradnju dolazi do akumulacije toksičnog metabolita N-acetilbenzoiminokinon koji reagira s nukleofilnim skupinama staničnih proteina s posljedičnom hepatotoksičnošću.³

3.3. METABOLIZAM ARAHIDONSKE KISELINE

Arahidonska kiselina (AK) je višestruko nezasićena 5,8,11,14-eikosatetraenoična kiselina. Sadrži 20 atoma ugljika i četiri dvostruke veze (označeno kao C20:4-6). Ona je najrašireniji prekursor biološki vrlo aktivnih molekula eikosanoida koji čine brojnu obitelj spojeva snažna djelovanja i mnogobrojnih funkcija u biljnom i životinjskom svijetu.^{3,4}

Eikosanoidi (grč. *eicosa* – dvadeset i *eidos* – oblik) su lipidi građeni od 20 ugljikovih atoma, te kao biološki važni lipidi čine vrlo snažnu skupinu posrednika upale. U ljudskom organizmu arahidonska kiselina najzastupljenija je u staničnoj membrani kao sastavnica fosfolipida. Za sintezu eikosanoida AK se najprije mora mobilizirati ili osloboditi sa sn-2 mjesta mebranskih fosfolipida djelovanjem nekoliko lipaza tipa fosfolipaza A₂ (PLA₂).

Razlikujemo tri fosfolipaze A₂ zadužene za oslobađanje arahidonske kiseline.

To su:

1. citosolna (c) PLA₂ - posreduje akutno oslobađanje AK
2. sekretorna (s) PLA₂ - održava produkciju AK u uvjetima njenog smanjenog ili stimuliranog stvaranja
3. fosfolipaza neovisna o kalciju (i) PLA₂

Združeni učinak fosfolipaze C i digliceridne lipaze također može osloboditi AK.

Arahidonska se kiselina može biotransformirati na četiri načina: ciklooksigenazni (COX), lipooksigenazni, izoeikosanoidni i metabolizam putem enzima CYP .

Postoji nekoliko bitnih čimbenika koji utječu na vrstu sinteze eikosanoida, odnosno kojim metaboličkim putem će se razvijati biotransformacij AK. Vrsta lipidnog supstrata, vrsta stanice, određeni stanični fenotip i način stimulacije stanice neki su od tih čimbenika.

Eikosanoidi mogu nastati i iz drugih prekursora osim AK, što može imati glavnu ulogu u produkciji srodnijih spojeva s manje neželjenih učinka na orgaizam. Primjerice, ciklooksigenaznim putem iz AK nastaje tromboksan A₂ (TXA₂) koji je snažni vazokonstriktor i agonist trombocita, dok metabolizmom eikosapentanoične kiseline (EPA) nastaje tromboksan A₃ (TXA₃), koji je razmjerno neaktivan. Stoga bi prehrana tim spojevima mogla pozitivno utjecati na kardiovaskularno zdravlje. ^{3,4}

3.3.1. CIKLOOKSIGENAZNI PUT METABOLIZMA ARAHIDONSKE KISELINE

Prostaglandin sintetaza 1 i 2 (COX1 i COX2) pretvaraju arahidonsku kiselinu u prostanoide (prostaglandine, prostaciklin i tromboksan) koji imaju vrlo važne učinke na glatke mišiće krvnih žila, dišne putove, gastrointestinalni sustav te reproduksijski sustav.

Najpoznatiji prostanoidi su: prostaglandin E2 (PGE2), prostaglandin D2 (PGD2), prostaglandin F2 α (PGF2 α), prostaciklin (PGI2) te tromboxan A2 (TXA2). ³

3.3.2. LIPOOKSIGENAZNI PUT METABOLIZMA ARAHIDONSKE KISELINE

Metabolizmom arahidonske kiseline koji kataliziraju 5, 12 i 15-lipooksigenaze (LOX) nastaju hidroperoksieikosatetraenoične kiseline (HPETE) koje se vrlo brzo pretvaraju u hidroksi derivate (HETE) i leukotriene. Ugradnja molekularnog kisika djelovanjem LOX, u suradnji sa aktivirajućim proteinom FLAP rezultira nastankom nestabilnog epoksid leukotriena A2 (LTA2) koji se pretvara u dehidroksi leukotrien B4 (LTB4) ili se konjugira sa glutationom stvarajući C4 (LTC4). Postupno uz pomoću leukotrien C4 prelazi u leukotrien D4 (LTD4) i leukotrien E4 (LTE4). Većina se leukotriena dominantno stvara u leukocitima. Često se povezuju s nastankom astme, anafilaktičkim šokom i kardiovaskularnim bolestima. ³

3.3.3. METABOLIZAM ARAHIDONSKE KISELINE PUTEM ENZIMA CYP

Jedan od mogućih načina metaboliziranja arahidonske kiseline je i onaj pomoću enzima CYP a uključuje reakcije katalizirane epoksigenazama i hidroksilazama.

CYP epoksigenaze, kao što su enzimi iz CYP2C i CYP2J obitelji, metaboliziraju AK u četiri biološki aktivne epoksieikosatrienoične kiseline (EETs; 5, 6-EET, 8, 9-EET, 11, 12-EET i 14, 15-EET). Među CYP2C i CYP2J obitelji enzima CYP, CYP2J2, CYP2C8, CYP2C9 predstavljaju dominantne izoforme epoksigenaze koje pretvaraju AK u EETs.

CYP ω -hidroksilaze pretvaraju AK u HETEs (hidroksieikosatetraenoične kiseline). Enzimi CYP4A i CYP4F uglavnom kataliziraju ω -hidroksilaciju AK do 20-HETE.

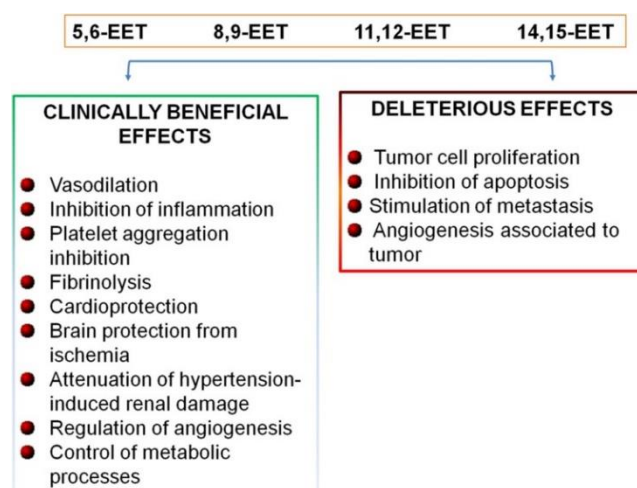
EETs se dalje metaboliziraju s pomoću sEH (engl. *soluble epoxide hydrolase*) u DHET (engl. *dihydroxyeicosatrienoic acid*) koja ima mnogo slabije učinke ili se beta oksidacijom prevode u 16-ugljične, zatim 22-ugljične derivate koji se ugrađuju u fosfolipide. Također, EET se lako uklopi u staničnu membranu putem esterifikacije u fosfolipide da bi se kasnije oslobađale putem fosfolipaza. Endotelne stanice su glavno mjesto ugradnje EETs-a. Epoksigenaze su lokalizirane u endotelu, glatkim mišićnim stanicama krvnih žila, astrocitima i kardiomiocitima. ³⁻⁵

Produkti epoksigenaze i hidroksilaze, EETs i 20-HETE, imaju brojne biološke učinke. Dok je glavno djelovanje 20-HETE vazokonstrikcija, EETs su važni vazodilatatori, osim u plućnoj cirkulaciji. Mehanizam vazokonstrikcije uzrokovan EET je poprilično kompleksan i uključuje difuziju EETs-a iz endotelnih stanica te aktivaciju kalijevih kanala ovisnih o kalciju (BKC) smještenih na glatkim mišićnim stanicama što dovodi do hiperpolarizacije i relaksacije glatkih mišića krvnih žila. EET se smatra kao jedan od glavnih uzroka hiperpolarizacije glatkih mišićnih stanica potekao iz endotela.

EETs pokazuju i protuupalne učinke na autokrini način, limitiraju adheziju leukocita i time ograničavaju transmigraciju leukocita preko endotela, inhibiraju agregaciju trombocita, potiču fibrinolizu, te smanjuju vaskularnu proliferaciju glatkih mišićnih stanica.

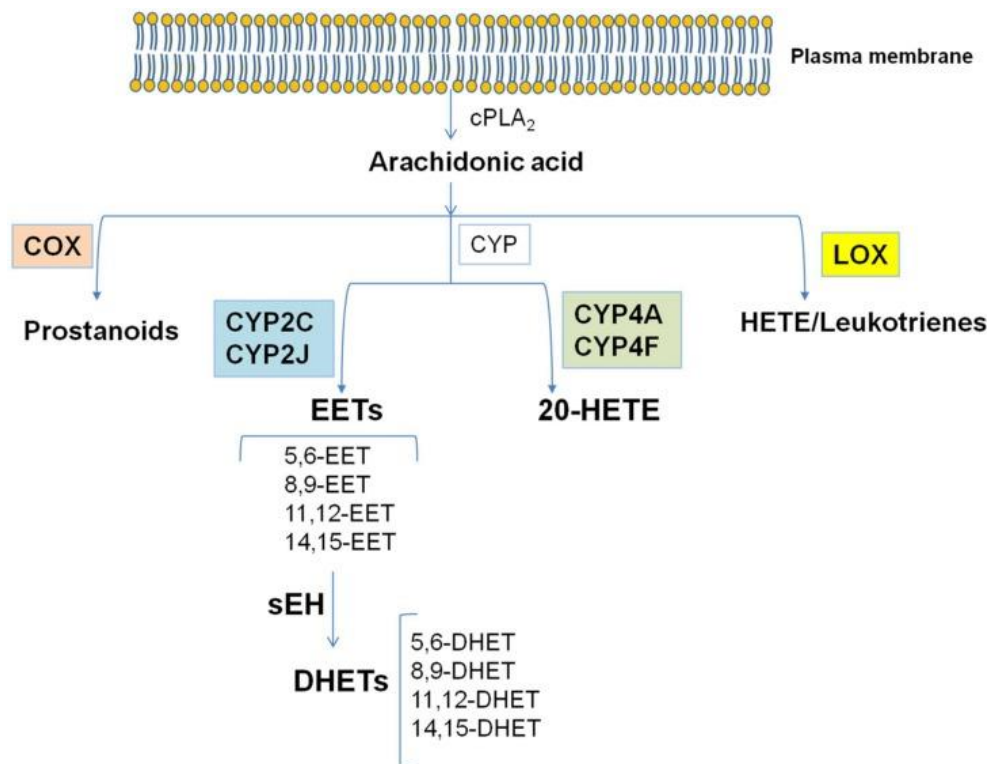
EET može zaštititi srčani mišić i mozak od ishemije, prigušiti hipertenzijom inducirano bubrežno oštećenje, te može smanjiti upalu u plućima uzrokovanu dimom cigareta.

Osim toga, EETs igraju važnu ulogu u regulaciji angiogeneze i kontroli metaboličkih procesa. Nedavna istraživanja su pokazala da su EETs uključene u biologiju tumora; u stvari, pokazalo se da su kritične za primarni rasta tumora i metastaziranje, izravnim poticanjem proliferacije tumorskih stanica, njihovo preživljavanje, migraciju i invaziju.⁴⁻⁶



SLIKA 3. Biološki učinci EETs.

Prema: Tacconelli, S., Patrignani, P., Inside epoxyeicosatrienoic acids and cardiovascular disease, Frontiers in PHARMACOLOGY, Volume 5, Article 239, 2014.



SLIKA 4. Metabolizam arahidonske kiseline.

Prema: Tacconelli, S., Patrignani, P., Inside epoxyeicosatrienoic acids and cardiovascular disease, *Frontiers in PHARMACOLOGY*, Volume 5, Article 239, 2014.

3.3.4. IZOEIKOSANOIDNI PUT METABOLIZMA AK

Neenzimatskim putem, izravnim djelovanjem slobodnih radikala na AK i srodne lipidne supstrate nastaju izoeikosanoidi, obitelj eikosanoidnih izomera. Izoprostani su stereoizomeri prostaglandina, za čije stvaranje nije potreban COX. Tijekom djelovanja slobodnih radikala dolazi do peroksidacije arahidonske kiseline dok je ona još uvijek esterificirana u membranskim fosfolipidima. Ovi stereoizomeri su za razliku od prostaglandina „pohranjeni“ u membrani. Oslobađaju se djelovanjem fosfolipaze, cirkuliraju i izlučuju urinom. Izoprostan ima snažan vazokonstriktorski učinak, te može utjecati na adheziju leukocita i trombocita. Smatra se da vjerojatno sudjeluje u patofiziologiji upalne reakcije, mehanizmima neosjetljivim na inhibitore COX.³

4. GENSKI POLIMORFIZAM

Genski polimorfizam se definira kao zajedničko pojavljivanje u nekoj populaciji dvaju ili više diskontinuiranih svojstava (genetički određenih osobina) s frekvencijom gdje se ona najrjeđa ne može održavati samo ponavljanjem mutacijama, odnosno ako se mutirana varijanta gena pojavljuje s učestalošću većom od 1% u normalnoj populaciji. Sekvenciranjem DNA je pokazano da je većina gena polimorfna, što ne mora rezultirati promjenom proteinskog proizvoda (ako zahvate introne ili rezultiraju sinonimnim kodom za istu aminokiselinu). U nekim slučajevima dovodi do stvaranja drugačijeg proteina koji može ali i ne mora imati promijenjenu funkciju. Varijacije DNA povećavaju se mutacijama, te ako one dovode do boljeg fenotipa koji ima selekcijsku prednost ili su blisko vezane s drugim genom koji uzrokuje bolji fenotip, tada će prirodna selekcija dovesti do povećanja frekvencije promijenjene DNA (i svojstava). Mnogo učestalih inačica DNA, ipak, ne dovodi do stvaranja drugačijeg proteina ili, ako do toga dođe, čini se da nema neke očite selekcijske prednosti ili nedostataka, ni nekog zamjetnog utjecaja na susjedne gene.^{7,8}

4.1. POLIMORFIZAM GENA CYP

Polimorfizam gena *CYP* određuje četiri kategorije fenotipova s obzirom na sposobnost i brzinu metaboliziranja lijeka:

1. Fenotip dobro izraženog metabolizma - BRZI METABOLIZATOR
(engl. *extensive metabolizer, EM*)
2. Fenotip slabog metabolizma - SPORI METABOLIZATOR
(engl. *poor metabolizer, PM*)
3. Fenotip izrazito pojačanog metabolizma - VRLO BRZI METABOLIZATOR
(engl. *ultrarapid metabolizer, UM*)
4. Fenotip intermedijarnog metabolizma - SREDNJE BRZI METABOLIZATOR
(engl. *intermediate metabolizer, IM*)

Fenotip dobro izraženog metabolizma je očekivana normalna osobina većeg dijela populacije, dok kod fenotipa slabog metabolizma dolazi do nakupljanja specifičnih lijekova-supstrata u organizmu zbog smanjene ili dokinute aktivnosti enzima (autosomno recesivno nasljeđivanje) te do veće učestalosti nuspojava koje su uzrokovane tim lijekom.

Osobe sa srednje brzim metaboličkim fenotipom mogu biti homozigoti za dva alela sa smanjenom aktivnosti ili heterozigoti, odnosno nositelji jednoga neaktivnog alela. One mogu iskusiti manje nuspojava nego spori metabolizatori. Izrazito brzi metabolizatori imaju više od dvije kopije alela (amplifikacija gena) i pokazuju ubranu razgradnju lijekova-supstrata (autosomno dominantno svojstvo) te kod njih može izostati očekivana učinkovitost lijeka zbog nepostizanja terapijske koncentracije.⁸⁻⁹

4.1.1. METODE ODREĐIVANJA METABOLIČKOG FENOTIPA

Fenotipizacija i genotipizaciju su metode određivanja metaboličkog fenotipa. Fenotipizacija je postupak određivanja metaboličkog fenotipa s pomoću pokusnog lijeka čiji metabolizam ovisi isključivo o aktivnosti ispitivanog enzima. Zatim pomoću metoda tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC), plinske kromatografije i masenom spektrometrijom (GC-MS) ili tekućinskom kromatografijom i masenom spektrometrijom (LC-MS) određujemo fenotip prema vrijednosti metaboličkog omjera (engl. Metabolic ratio, MR) koncentracija izvornog lijeka/metabolita. Ovim načinom možemo također pratiti interakcije lijekova koje bolesnik istodobno uzima. Veliki nedostatak ovog postupaka je dobivanje neispravnih rezultata zbog bolesti jetre i bubrega te mogućih interakcija s drugim spojevima. U tim slučajevima pribjegavamo metabolički fenotip odrediti genotipizacijom.⁸

TABLICA 2. Pokusni lijekovi za fenotipizaciju enzima CYP.

Prema: Božina, N. U Sertić, J., Klinička kemija i molekularna dijagnostika, Medicinska naklada, Zagreb, 2007., str. 304.

$$MR = \frac{257,4 \times \text{dekstrometorfan } (\mu\text{g/ml})}{271,4 \times \text{dekstrolorfan } (\mu\text{g/ml})}$$

MR>0,3	Spori metabolički fenotip (PM)
MR 0,001-0,08	Brzi metabolički fenotip (EM)
MR 0,08-0,3	Intermedijarni metabolički fenotip (IM)
MR<0,001	Vrlo brzi metabolički fenotip (UM)

TABLICA 3. Fenotipizacije CYP2D6 s dekstrometorfanom (GC-MS ili HPLC).

Prema: Božina, N. U Sertić, J., Klinička kemija i molekularna dijagnostika, Medicinska naklada, Zagreb, 2007., str. 304.

Enzim	Pokusni lijek za fenotipizaciju
CYP2D6	dekstrometorfan, spartein, metoprolol, debrisoquin
CYP2C9	fenitoin, varfarin
CYP2C19	omeprazol, mefenitoin, progvanil
CYP3A4	midazolam, eritromicin, omeprazol
CYP1A2	kafein

Genotipizacija je najbolji postupak za određivanje metaboličkog fenotipa metodama molekularne dijagnostike koje se temelje na polimeraznoj lančanoj reakciji (engl. PCR-polymerase chain reaction) poput PCR-RFLP, real time PCR, genetski čip, te prepoznavanje homozigotnih ili heterozigotnih nositelja mutiranih alela koji rezultiraju određenim fenotipom.

Mutacije detektirane genotipizacijom možemo svrstati u one koje dovode do prekomjerne ekspresije (duplikacija gena), odsutnosti aktivnog proteina (nul-aleli), ili do stvaranja proteina sa smanjenom katalitičkom funkcijom (inaktivirajući aleli). Za analizu je potrebna mala količina krvi ili tkiva.

Ova je metoda daleko naprednija, jednostavnija, točna te ne ovisi o zdravstvenom stanju pacijenata niti o lijekovima koje koristi. Rezultati su dostupni u kratkom vremenu i izvodi se samo jednom u životu jer genotip ostaje nepromjenjiv.

Postoji mnogo različitih mutacija gena *CYP*, ali zbog ekonomskih razloga provodi se detekcija sam najučestalijih u populaciji. Za kliničku praksu najvažniji su polimorfizmi gena *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP3A4* i *CYP3A5*.⁸

TABLICA 4. Najčešći aleli *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* i *CYP3A4*.

Prema: Božina, N. U Sertić, J., Klinička kemija i molekularna dijagnostika, Medicinska naklada, Zagreb, 2007., str. 304.

Alel	Nukleotidna promjena	Enzimska aktivnost
<i>CYP2C9</i> *1	nema	normalna
<i>CYP2C9</i> *2	C 430 T	smanjena
<i>CYP2C9</i> *3	A 1075 C	smanjena
<i>CYP2C19</i> *1 (wt)	nema	normalna
<i>CYP2C19</i> *2	G 681 A	nema
<i>CYP2C19</i> *3	G 636 A	nema
<i>CYP2D6</i> *1 (wt)	nema	normalna
<i>CYP2D6</i> *2 (1xN)	N aktivnih gena	povećana
<i>CYP2D6</i> *3	A 2549 delecija	nema
<i>CYP2D6</i> *4	G 18464 A	nema
<i>CYP2D6</i> *5	<i>CYP2D6</i> delecija	nema
<i>CYP2D6</i> *6	T 1707 delecija	nema
<i>CYP3A4</i> wt	nema	normalna
<i>CYP3A4</i> *1B	A 290 G	povećana
wt- wild type - „divlji“ (izvorni oblik)		

4.2. CITOKROM P450 2C19 (CYP2C19) I POLIMORFIZAM GENA *CYP2C19*

CYP2C19 je hemoprotein koji sudjeluje u prvoj fazi biotransformacije ksenobiotika i endogenih molekula te spada u veliku gensku obitelj *CYP2C*. U ukupnom udjelu metabolizma prve faze biotransformacije zajedno sa CYP2C9 čini 15 %. Lokus gena *CYP2C19* nalazi se na kromosomu 10q24 i sastoji se od 9 egzona. Gen koji kodira ovaj enzim je polimorfan što je značajno za kliničku praksu jer enzim CYP2C19 sudjeluje u metabolizmu više važnih lijekova.

Do sada je dokumentirano 15 različitih alela gena i otkrivena je značajna međuetnička varijabilnost frekvencije fenotipa. Tako je u bijeloj populaciji incidencija sporih metabolizatora 1-5%, 13-23% u azijske, 6% među Etiopljanima, te 70 % među stanovništvom Vanuatu.^{2,10}

Za kliničku praksu važna su četiri alela *CYP2C19*:

1. *CYP2C19*1* (divlji tip)
2. *CYP2C19*2* - odgovoran za odsutnu ili smanjenu aktivnost enzima
3. *CYP2C19*3* - odgovoran za odsutnu ili smanjenu aktivnost enzima
4. *CYP2C19*17* - odgovoran za pojačanu aktivnost enzima

Dosadašnja istraživanja navode zastupljenost *CYP2C19*2* i *CYP2C19*3* u 95 % osoba sporih metabolizatora. Najčešći polimorfni aleli u bjelačkoj populaciji je alel *2C19*2*, a u azijskoj alel *2C19*3* koji kodiraju inaktivni enzim. Spori metabolizatori su podložniji nuspojavama lijekova supstrata poput hepatotoksičnosti i nefrotoksičnosti u odnosu na intermedijarne i brze metabolizatore.¹⁰

TABLICA 5. Učestalost polimorfni alela za *CYP2C19* u Hrvatskoj populaciji.

Prema: Mezak, M., Mirković, Z., Božina, N., Učestalost enzima CYP 2C19 u Hrvatskoj populaciji, Klinička jedinica za farmakogenomiku i individualizaciju terapije, KBC Zagreb, 2014.

Ultrabrzi metabolizator (UM)	*1/*17 (30,15 %), *17/*17 (6,76%)
Brzi metabolizator (EM)	*1/*1 (34,46%)
Intermedijarni metabolizator (IM)	*1/*2 (20,30%)
Spori metabolizator (PM)	*2/*2 (3,07%)

„Zbog značajne učestalosti polimorfizma CYP2C19 u hrvatskoj populaciji genotipizacija može pomoći u individualizaciji terapije i spriječiti nuspojave lijekova supstrata CYP2C19.“¹⁰

TABLICA 6. Bitniji supstrati enzima CYP 2C19.

Prema: Božina, N., Šarinić, V., Farmakogenomika i farmakovigilancija, Medicinska naklada, Zagreb, 2013., str. 12.

Skupina lijekova

Antikonvulzivi	Barbiturati, fenitoin, valproati
Blokatori protonske pumpe	Omeprazol, lansoprazol, pantoprazol
Psihofarmaci	Diazepam, imipramin, klomipramin, sertralin, citalopram
Ostali	Klopidogrel, progvanil, propranolol, ritonavir, tolbutamid, dijelom rosuvastatin

5. KARDIOEMBOLISKI DOGAĐAJI

5.1. MOŽDANI UDAR - CEREBROVASKULARNI INZULT

5.1.1. DEFINICIJA

Akutni moždani udar (MU) se definira kao nagli razvoj kliničkih znakova žarišnog (ili globalnog) poremećaja moždanih funkcija sa simptomima koji traju 24 sata i duže ili vode letalnom ishodu, bez jasnog drugog uzroka izuzev oštećenja krvnih žila (WHO). Tijekom cerebrovaskularnog inzulta dolazi do nedovoljne opskrbe određenih dijelova mozga kisikom i hranjivim tvarima, uzrokujući oštećenje i odumiranje živčanih stanica.

Prema X. reviziji Međunarodne klasifikacije bolesti cerebrovaskularne bolesti spadaju u kardiovaskularne bolesti sa MKB šifrom I60-I69.¹¹⁻¹³

5.1.2. EPIDEMIOLOGIJA

Danas se govori o globalnoj epidemiji kardiovaskularnih bolesti. Nešto manje od polovine smrti od kardiovaskularnih bolesti uzrokovano je ishemijskim bolestima srca, a oko trećine cerebrovaskularnim bolestima. Prema podacima svjetske zdravstvene organizacije MU je treći vodeći uzrok pobola, drugi uzrok smrtnosti (9%) i vodeći uzrok invaliditeta populacije suvremenog svijeta. Godišnje u svijetu od MU umre oko 5 550 000 ljudi, u Europi oko 1 280 000, odnosno svaka šesta žena (18%) i svaki deseti muškarac (28%). Procjenjuje se da će do 2030. godine 23,6 milijuna ljudi godišnje umirati zbog kardiovaskularnih bolesti.¹²

Zadnjih 10-ak godina zabilježen je pad stope incidencije MU što potvrđuje nekoliko velikih studija među kojima je i vrlo poznata Framinghamska studija. Glavni razlog tome su dakako uspješnije mjere prevencije, posebno primarne prevencije MU redukcijom rizičnih čimbenika.¹⁴

Standardizirane stope smrtnosti od cerebrovaskularnih bolesti za istu dobnu skupinu u muškaraca i u žena bile su najniže u Švicarskoj, Francuskoj i Islandu, a najviše u Bugarskoj, Rusiji i Ukrajini. U svim promatranim zemljama dobno specifične stope smrtnosti su niže u žena nego u muškaraca.

U Hrvatskoj je 2013. godine umrlo 50.386 osoba. Od njih je 49,6% muškaraca i 50,4% žena. Vodeći uzrok smrti su kardiovaskularne bolesti sa 24.841 umrle osobe i udjelom od 48,7% u ukupnom mortalitetu. To praktički znači da je kod svakog drugog umrlog u Hrvatskoj uzrok smrti bila jedna od bolesti kardiovaskularnog sustava. Među umrlima od kardiovaskularnih bolesti bilo je 42,4% muškaraca i 57,6% žena.¹⁵

Mortalitet od MU varira u ovisnosti o spolu i etničkoj pripadnosti. MU se rijetko pojavljuje prije četrdesete godine. Češći je među crnačkom populacijom te je češći u muškaraca. Dobno standardizirane stope incidencije (engl. *age-standardized incidence rates*; dobar su pokazatelj za incidenciju moždanog udara) rastu eksponencijalno sa dobi iznoseći prosječno oko 2,5/100 000 stanovnika (0,3 promila između 30-40 god. života do čak 30 promila u osmom i devetom desetljeću života).¹⁶

TABLICA 7. Rang ljestvica te udio 10 vodećih uzroka smrti u Hrvatskoj 2013. godine.

Prema: Državni zavod za statistiku RH, 2014. god.

MKB-X ŠIFRA	DIJAGNOZA	BROJ	%
I20-I25	Ishemijske bolesti srca	10.772	21,38
I60-I69	Cerebrovaskularne bolesti	7.242	14,38
C33-C34	Zloćudna novotvorina dušnika, dušnica i pluća	2 802	5,56
C18-C21	Zloćudne novotvorine debelog crijeva	2.037	4,04
I10-I15	Hipertenzivne bolesti	1.947	3,86
J40-J47	Kronične bolesti donjeg dišnog sustava	1.704	3,38
I50	Insuficijencija srca	1.341	2,66
E10-E14	Dijabetes melitus	1.243	2,47
C50	Zloćudna novotvorina dojke	1.010	2,00
K70, K73, K74	Kronične bolesti jetre, fibroza i ciroza	982	1,95
PRVIH 10 UZROKA SMRTI		31.091	61,69
UKUPNO		50.386	

5.1.3. RIZIČNI ČIMBENICI ZA RAZVOJ MOŽDANOG UDARA

Rizične čimbenike možemo opisati kao pojave koje potpomažu nastanak promjena u kardiovaskularnom sustavu koje su odgovorne za formiranje ugrušaka i embolusa te posljedično razvoj moždanog udara. Čimbenici mogu biti predodređeni (na koje se ne može utjecati) i varijabilni (na koje se može utjecati).¹⁷

TABLICA 8. Rizični čimbenici za nastanak moždanog udara.

Prema: Kumar, P., Clark, M., Clinical Medicine, seventh edition, Saunders, London, UK, 2009., str. 1127.

Predodređeni	Varijabilni	
dob (iznad 60)	Stil života	Bolesti
spol (muški)	pretilost	dijabetes
rasa (crnačka)	pušenje	hipertenzija
prethodni MU ili TIA	alkohol i droge	hiperlipidemija
pozitivna obiteljska anamneza	smanjena tjelesna aktivnost	srčane bolesti
	HNL i oralni kontraceptivi	poremećaji srčanog ritma (FA)
	nezdrava prehrana	značajna stenoza karotide
	stres	endokarditis, amiloidoza, lupus

5.1.4. KLASIFIKACIJA MOŽDANOG UDARA

Dvije glavne kategorije moždanog udara su:

- Ishemijski moždani udar

85-87% svih MU čini upravo ishemijski koji nastaje kao posljedica obustave dotoka krvi u određeni dio mozga. Za prekid cirkulacije odgovoran je embolus ili stvaranje tromboze in situ.

- Hemoragijski moždani udar

Odgovoran je za 15-20% svih ostalih MU a nastaje kao posljedica rupture krvne žile ili vaskularnih malformacija uzrokujući intracerebralno krvarenje (10-17%) u moždani parenhim ili subarahnoidalno krvarenje (5%).¹⁸

Ishemijski moždani udar može se klasificirati na nekoliko načina ali najrelevantnija je TOAST klasifikacija (Trial of Org 10172 Acute Stroke Treatment) koja klasificira ishemijski moždani udar u pet osnovnih kategorija vođenih kliničkim simptomima i uzrokom MU.¹⁹

Te kategorije su :

- infarkti zbog aterotromboze ili embolije velikih krvnih žila (engl. *LAA- large artery atherosclerosis*)
- kardioembolijski moždani udari (engl. *CE- cardioembolism*)
- lakunarni infarkti (engl. *SAO- small artery occlusion*)
- infarkti kao posljedica drugih uzroka (engl. *OC- stroke of other determined cause*)
- infarkti nepoznatog uzroka – kriptogeni MU (engl. *UND- stroke of undetermined cause*)

5.2. PATOFIZIOLOGIJA ISHEMIJSKOG MOŽDANOG UDARA

Za funkcioniranje središnjeg živčanog sustava neophodna je konstantna opskrba živčanih stanica (neurona) glukozom i kisikom, što je moguće uz adekvatan i konstantan protok krvi.

Karotidni i vertebrobazilarni sliv zaslužni su za sav dotok krvi u mozak te za njenu jednakomjernu raspodjelu. Svaki od njih ima sposobnost kompenzirati smanjeni protok kroz neku od arterija drugog sliva zbog međusobnih anastomoza koje čine Willisijev prsten.

Normalna prosječna vrijednost cerebralnog protoka (engl. *CBF - cerebral blood flow*) u zdravih ljudi iznosi prosječno 5-60/ml/100 mg tkiva u minuti. Takav protok je potrebno održavati i regulirati kako bi mozak optimalno funkcionirao, a za njegovu regulaciju su odgovorni mehanizmi poput metaboličke kontrole (CO₂, pH, ioni Ca), kemoregulacije (CO₂, NO), neurogena kontrola (putem baroreceptora) te autoregulacija (vaskularni mehanizmi).

Svako smanjenje protoka ispod kritične razine (prag cerebralnog protoka za ishemiju) uzrokuje ishemiju tkiva sa funkcionalnim i morfološkim oštećenjem zahvaćenog dijela.

Nedovoljna opskrba krvlju može biti uzrokovana aterosklerotskim promjenama na krvnim žilama koje dovode do turbulentnog protoka krvi kroz suženi lumen. Nestabilni aterosklerotiski plakovi skloni su rupturiranju što dovodi do stvaranja mikroembolusa detritusom plaka i djelovima tromba koji se razvijaju na takvom oštećenju žile. Najčešće porijeklo embolusa je ipak kardiogenog uzroka.²⁰

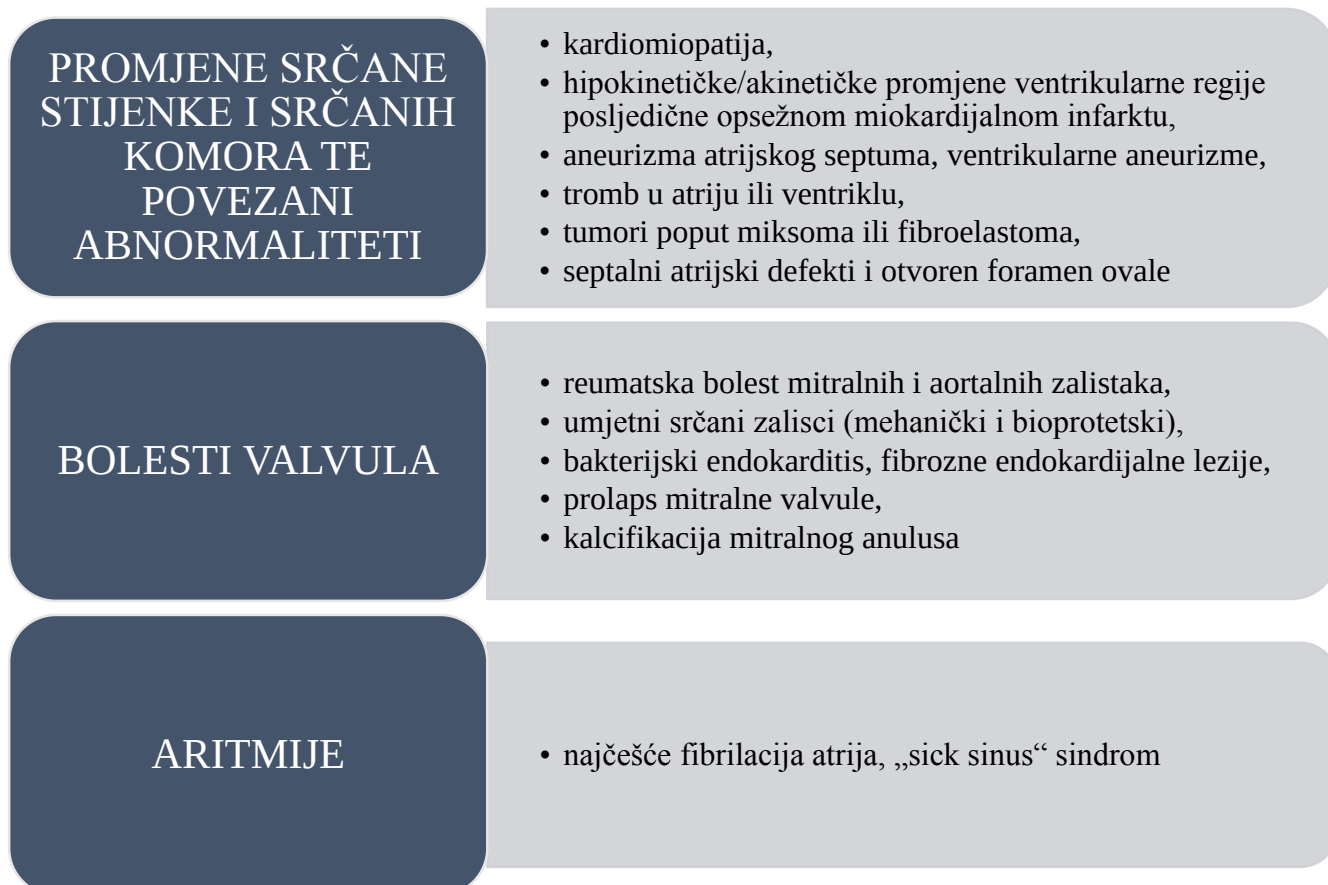
5.2.1. KARDIOEMBOLIJSKI MOŽDANI UDAR (CE MU)

20-30% svih moždanih udara uzrokovano je embolusom kardiogenog porijekla najčešće fibrilacijom atriya čija prevalencija raste s godinama. CE MU je nešto češći u bijeloj populaciji nego crnoj. Bolesnici s FA često su skloni recidivima i to sa rizikom od čak 5-7% unutar 7-12 dana nakon preboljelog CE MU. Treba naglasiti da CE MU dovodi do težih neuroloških ispada, rapidnog nastanka simptoma, uz česte promjene svijesti te smrtnosti od 30%, dok kod recidivirajućeg oblika CE MU mortalitet raste i do 70%. Ponekad zbog brze lize tromba i/ili propagacije u distalnije dijelove krvne žile oporavak neuroloških simptoma može nastupiti relativno brzo. Isto tako, propagacija tromba može dovesti do prodora krvi kroz oštećene kapilare i arteriole prvotno zahvaćene ishemijom što će rezultirati hemoragijskom tranzicijom infarktne zone koja je češća u CE MU u odnosu na ostale uzroke MU.²¹

5.2.2. PATOFIZIOLOGIJA KARDIOEMBOLIJSKOG MOŽDANOG UDARA

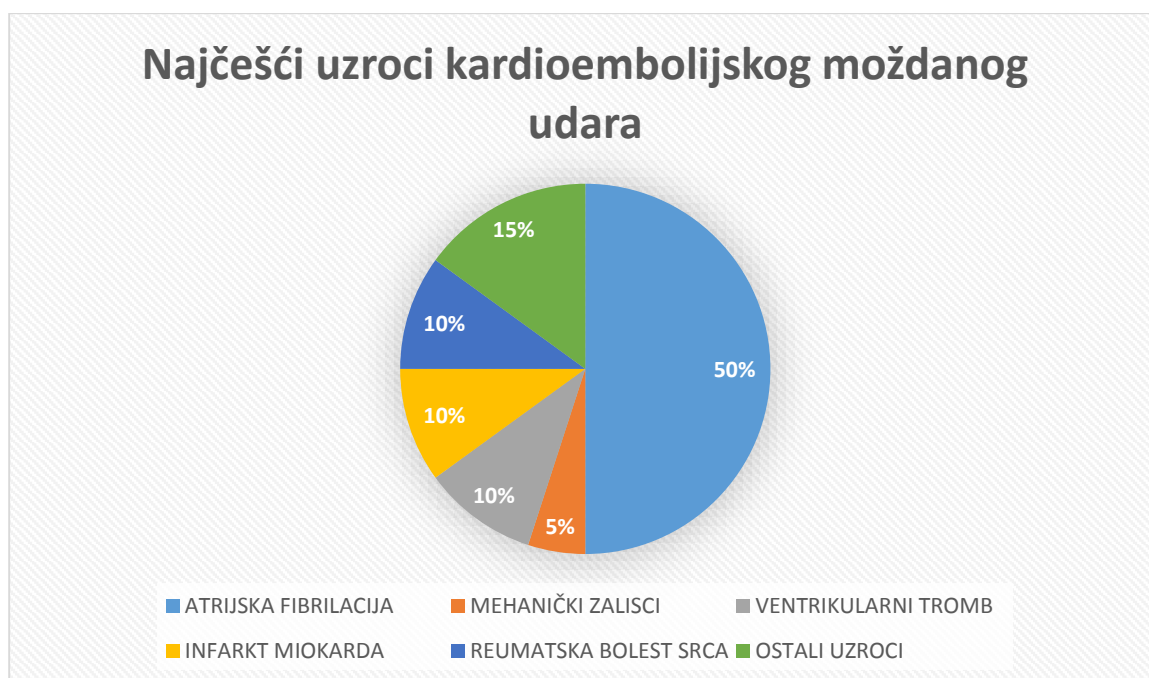
Više od 80% embolusa porijeklom iz srca dopijuje u krvožilje mozga i to 80% u prednju karotidnu cirkulaciju a 20 % u vertebrobazilarni sliv, te dovode do ishemije dijela mozga sa posljedičnom simptomatologijom MU. Najveći dio embolusa čine agregirani trombociti uz masti, kalcij, bakterije te u određenim slučajevima uz maligne stanice. Mogu nastati kao posljedica staze krvi ili nastaju raspadom vegetacija različitog porijekla na srčanim zaliscima. Infarkt miokarda i fibrilacija atriya glavni su uzrok staze krvi.²²

5.2.3. UZROCI KARDIOEMBOLIJSKOG MOŽDANOG UDARA



SLIKA 5. Uzroci kardioembolijskog moždanog udara.

Prema: Šupe, S., Uloga genskog polimorfizma CYP2C9 i VKORC1 u individualizaciji terapije varfarinom kod pacijenata sa akutnim moždanim udarom, Dizertacija, Zagreb, 2011.



SLIKA 6. Uzroci kardioembolijskog MU po učestalosti.

Prema: Schneck, MJ., Cardioembolic stroke, 2010.

5.2.4. FIBRILACIJA ATRIJA

Fibrilacija atrijsa je globalni zdravstveni problem i najčešća aritmija u kliničkoj praksi. Procjenjuje se da u svijetu živi preko 35 milijuna ljudi koji boluju od fibrilacije atrijsa i da svake godine novih 5 milijuna ljudi počinje svoju bitku s tom bolešću, uz očekivani daljnji rast incidencije i prevalencije kojeg nosi starenje populacije.

Prevenција tromboembolijskih komplikacija predstavlja jedan od ključnih problema u liječenju tih bolesnika, osobito kada se uzmu u obzir podaci da 40% bolesnika uopće ne dobiva profilaktičku terapiju, a i među onima koji se liječe značajan je broj bolesnika kod kojih se ne uspijeva postići primjeren antikoagulacijski učinak.

U srčanoj pretkljetki dolazi do izbijanja impulsa iz mnogo ektopičnih izvora što za posljedicu ima nekoordinirane atrijske aktivacije i poremećene mehaničke funkcije sa smanjenom djelotvornošću srčane pumpe. Smrtnost bolesnika s FA veća je (u Framinghamskoj studiji i do dva puta) u odnosu na populaciju bez FA.

Najčešći uzroci su ishemijska koronarna bolest srca, kardiomiopatija, bolesti mitralne valvule, oštećenja perikarda, hipertireoza, te nasljeđe. FA povisuje rizik za nastanak MU 5-7 puta, a zajedno sa mehaničkom mitralnom valvulom i do 20 puta. Povećana je stopa smrtnosti nakon recidivnog CE MU koja je u okviru trogodišnjeg preživljavanja tri puta veća u odnosu na pacijente koji su preboljeli lakunarni MU.

Glavni cilj terapije FA je kontrola frekvencije, ritma i sprječavanje tromboembolijskih incidenata. Najprije pomoću različitih sustava bodovanja procjenjujemo rizik od tromboembolijskih komplikacija, te na osnovu toga odlučujemo treba li uvesti medikamentnu terapiju ili ne. Po najnovijem *scoring sustavu* pod akronimom CHA₂DS₂VASc razlikujemo glavne i klinički relevantne rizične čimbenike.

Glavni rizični čimbenici nose 2 boda, ostali po 1 bod:

- C (kongestivno zatajivanje srca) = 1 bod;
- H (hipertenzija) = 1 bod; A (age, dob ≥ 75 godina) = 2 boda;
- D (dijabetes) = 1 bod;
- S (stroke, prethodni moždani udar) = 2 boda;
- V (vaskularna bolest, uključuje infarkt miokarda, aterosklerotski plak na aorti, perifernu arterijsku bolest) = 1 bod;
- A (age, dob 65-74 godine) = 1 bod,
- Sc (spol, ženski) = 1 bod.

Maksimalno zbroj bodova iznosi 9. Za bolesnike s CHA₂DS₂VASc score ≥ 2 preporučuje se peroralna antikoagulantna terapija. Kod CHA₂DS₂VASc score = 1 preporučuje se peroralna antikoagulantna terapija ili acetilsalicilna kiselina, pri čemu se daje prednost antikoagulantnoj terapiji. Kod bolesnika s CHA₂DS₂VASc score = 0 preporučuje se terapija acetilsalicilnom kiselinom ili izostavljanje antitrombotske terapije, pri čemu se prednost daje izostavljanju terapije.

Antikoagulantna terapija podrazumijeva primjenu varfarina (antagonista vitamina K) koji ima najjači učinak u sprječavanju TE incidenta. Antitrombotična terapija općenito podrazumijeva davanje acetilsalicilne kiseline u dozi od 75 do 325 mg.²³

Moguća je i dualna antitrombotična terapija (acetilsalicilna kiselina + klopidoogrel) koja nudi veću zaštitu od monoterapije acetilsalicilnom kiselinom, ali uz cijenu povećane incidencije krvarenja, koja je slična onoj kod antikoagulantne terapije.^{23,24}

5.2.5. SEKUNDARNA PREVENCIJA MOŽDANOG UDARA

Sekundarna prevencija moždanog udara odnosi se na mjere sprječavanja ponavljanja bolesti, što se događa često ukoliko se ne djeluje na čimbenike rizika. Recidivirajući inzulti dovode do pogoršanja tjelesne invalidnosti, narušavanja kvalitete života, pojave demencije, a često su i fatalni.

Mjere sekundarne prevencije uključuju higijensko dijetetske mjere (prestanak pušenja, promjena prehrane, smanjenje tjelesne težine, smanjeni unos soli i dr.), kontrola dijabetesa i krvnoga tlaka te primjena farmakološke terapije čiji je cilj dugotrajna inhibicija stvaranja tromba što se postiže inhibicijom agregacije trombocita i antikoagulantnom terapijom.

Najviše korišten lijek u sekundarnoj prevenciji ishemijskog moždanog udara je aspirin u dnevnoj dozi 50-325 mg. Pored aspirina, još su dvije terapijske mogućnosti koje se mogu, zavisno o individualnim osobinama bolesnika, smatrati prvim izborom u sekundarnoj prevenciji ishemijskog moždanog udara: klopidoogrel (75 mg dnevno) i kombinacija acetilsalicilne kiseline i dipiridamola sa produljenim djelovanjem.¹⁷

6. UTJECAJ POLIMORFIZAMA CYP2C19 NA RAZVOJ RIZIČNIH ČIMBENIKA KARDIOVASKULARNIH BOLESTI I TERAPIJU KLOPIDOGRELOM

6.1.UTJECAJ POLIMORFIZMA CYP2C19 NA RAZVOJ HIPERTENZIJE I ATEROSKLEROZE TE POJAČANE AGREGACIJE TROMBOCITA

Jedan od najvažnijih čimbenika za razvoj moždanog udara je ateroskleroza. Dva su mehanizma kojim ateroskleroza uzrokuje moždani udar; neposredno putem embolusa otkinutih od tromboziranih i rupturiranih aterosklerotskih plakova na velikim arterijama (najčešće a. carotis- engl. *LAA- large artery atherosclerosis*), te posredno najčešće nakon infarkta miokarda čija su posljedica diskinetičke i mehaničke promjene supraventrikularne i ventrikularne regije, te stvaranje embolusa koji uzrokuje kardioembolijski moždani udar.

Mehaničke promjene/komplikacije nisu toliko česte a uključuju rupturu slobodne stjenke lijeve klijetke, rupturu interventrikularnog septuma, disfunkciju ili rupturu papilarnog mišića te aneurizmu ventrikula. U diskinetičke komplikacije ubrajaju se različiti poremećaji ritma koji su vrlo česti nakon infarkta a to su fibrilacija atrijska, ventrikularna tahikardija, ventrikularne ekstrasistole, ventrikularna fibrilacija i druge. Uz navedene promjene, do fibrilacije atrijske kao komplikacije posljedično dovodi i zatajenje srca uzrokovano infarktom miokarda. Sve navedene komplikacije dovode do hemodinamskih promjena unutar srca te stvaraju uvjete (Virchowjev trijas) za povećanu agregaciju trombocita te stvaranje tromba. Poznato je da hipertenzija oštećuje endotel krvnih žila čime inicira nastanak ateroskleroze. Također, jedan je od glavnih čimbenika rizika za zatajenje srca i razvoj moždanog udara.¹⁷

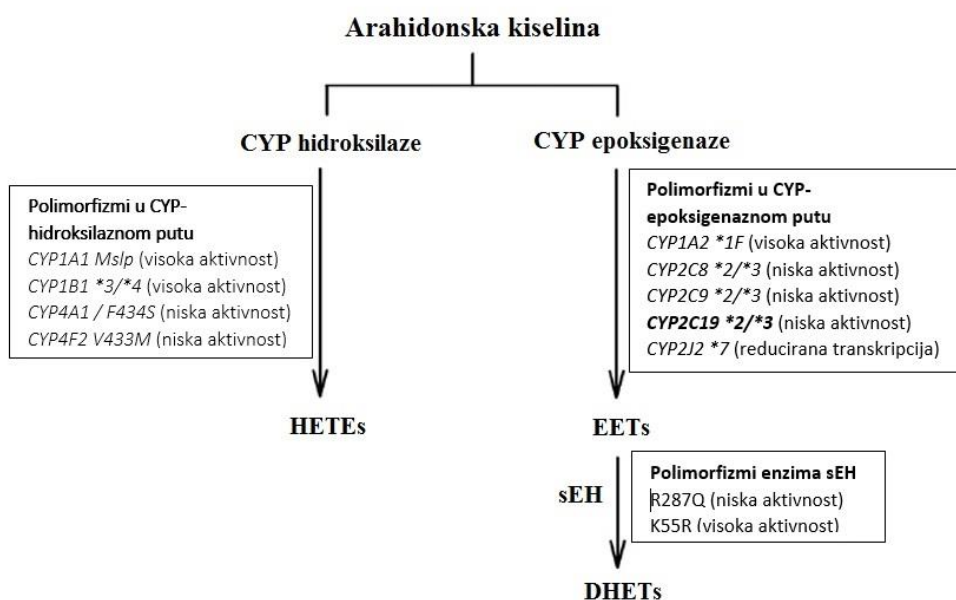
6.1.1. UTJECAJ POLIMORFIZMA CYP2C19 NA METABOLIZAM ARAHIDONSKE KISELINE

Mnoge kardiološke bolesti dovode do nastanka kardioembolijskog događaja, no najvažnija i najčešći incijator tih bolesti je ishemijska bolest srca koja predstavlja glavni globalni problem današnjeg svijeta. Ishemijska bolest srca najčešći je uzrok smrti u razvijenim zemljama svijeta, i uzrokuje više smrti, invaliditeta i ekonomskih gubitaka od bilo koje druge bolesti.^{11,12}

Najčešći uzrok ishemijske bolesti srca je ateroskleroza koronarnih arterija koja dovodi do promjene koronarne cirkulacije i nesrazmjera potrebe i opskrbe miokarda kisikom. Iako su uzroci ateroskleroze odavno poznati i dobro proučeni, u novijoj povijesti medicine sve se više naglaska u istraživanjima stavlja na individualne metaboličke osobine razgradnje endogenih molekula uključenih u patofiziologiju ateroskleroze.¹⁷

Bitniji protektivni čimbenici u očuvanju integriteta endotela krvnih žila i hemostaze su produkti arahidonske kiseline. Uzimajući u obzir količinu dokaza iz novijih istraživanja o ulozi enzima citokroma P450 u kardiovaskularnoj fiziologiji, polimorfizmi enzima CYP mogu se smatrati jednim od čimbenika podložnosti kardiovaskularnim bolestima.

CYP epoksigenaze kao što su CYP1A2, CYP2C i CYP2J2 metaboliziraju arahidonsku kiselinu u epoksieikosatrienoične kiseline (EET) koje imaju različite učinke od kojih su brojni kardioprotektivni (vazodilatacija, antiinflamatorni učinci, antiapoptotički učinci, inhibicija agregacije trombocita, natriuretski učinci, poticanje fibrinolize, reduciranje proliferacije glatkih mišićnih stanica krvnih žila). Genetički polimorfizmi koji uzrokuju smanjenu aktivnost ovih enzima povezani su sa povećanim rizikom od kardiovaskularnih bolesti kao što su hipertenzija i bolest koronarnih arterija.⁴⁻⁶



SLIKA 7. Metabolizam arahidonske kiseline putem enzima CYP.
Prema: Zordoky, B., El-Kadi, A., Effect of cytochrome P450 polymorphism on arachidonic acid metabolism and their impact on cardiovascular diseases, Pharmacology & Therapeutics, 2010;125,446-446.

Enzimi CYP igraju važnu ulogu u održavanju homeostaze kardiovaskularnog sustava jer kataliziraju stvaranje i / ili metabolizam više endogenih supstrata , kao što su kolesterol, androgeni, estrogeni i nekoliko metabolita arahidonske kiseline za koje se zna da djeluju na različite kardiovaskularne funkcije.

Mnoga istraživanja ukazuju da EETs djeluju kao faktori hiperpolarizacije endotelnog porijekla jer posjeduju snažan vazodilatacijski učinak i hiperpolariziraju glatke mišićne stanice aktivirajući kalijeve kanale ovisne o kalciju. Uz vazodilataciju EETs poboljšavaju renalnu ekskreciju natrija i inhibiraju njegovu reapsorpciju te na taj način smanjuju krvni tlak. Antiinflamatorni učinak ostvaruju smanjenjem citokinom inducirane endotelijalne ekspresije adhezivnih molekula (VCAM-1), i smanjuju adheziju leukocita na endotel inhibicijom nuklearnog faktora kB (NF-kB), i IκB kinaze. Uz to, aktivacija tirozin kinaze i MAP kinaze također su uključeni u posredovanje protuupalnog učinaka EETs. ⁴⁻⁶

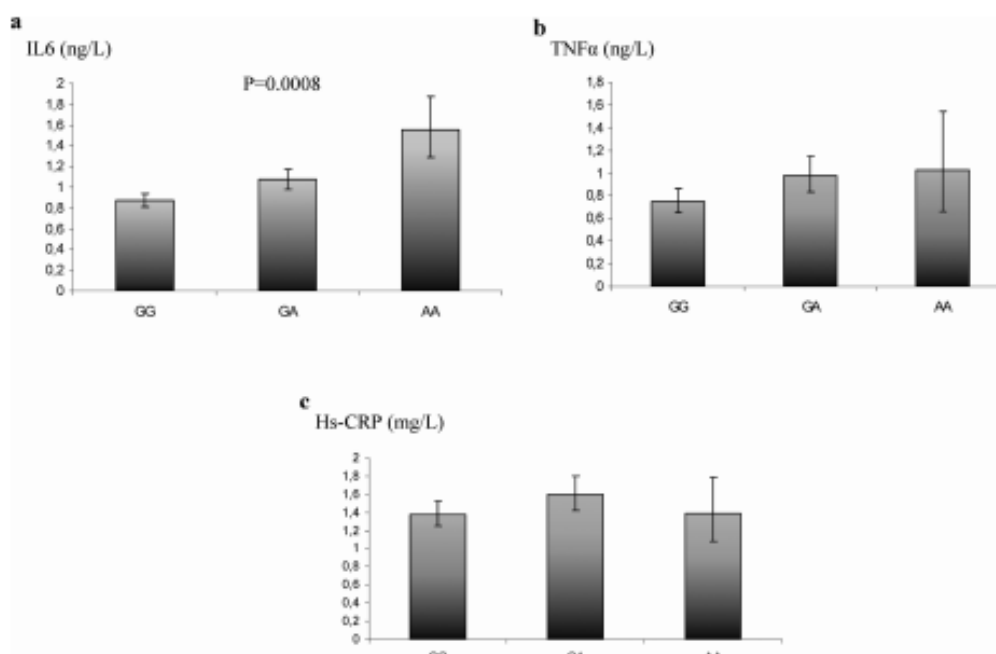
U krvožilnom sustavu, EETs potiču rast endotelijalnih stanica i angiogenezu, dok s druge strane inhibiraju proliferaciju glatkih mišićnih stanica krvnih žila što čini dualnu protekciju u vidu promocije neovaskularizacije ishemičnog tkiva i usporavanja progresije aterosklerotskih promjena. Fibrinolizu potiču povećanjem ekspresije i aktivnosti aktivatora tkivnog plazminogena (tPA).

Kardioprotektivni učinci EETs-a pripisuju se aktivaciji ATP-osjetljivih kalijevih kanala, p42 / P44 MAPK i PKA kao i inhibiciji NF-kB. Osim toga, EETs moduliraju aktivaciju nekoliko srčanih ionskih kanala (blokiraju natrijeve kanale i moduliraju srčane kalcijeve struje).

Nikako se ne smije zanemariti njihova uloga u moždanoj cirkulaciji gdje utječu na moždani protok. Astroцити sintetiziraju i oslobađaju EET na podražaj ekscitatornih neurotransmitora. EETs potom djeluju na glatke mišićne stanice moždanih krvnih žila izazivajući time vazodilataciju i povećanje protoka u aktivnim dijelovima mozga.

Mutirani aleli *CYP2C19*2* i *CYP2C19*3* kodiraju enzim sa smanjenom katalitičkom funkcijom što dovodi do smanjenja koncentracije EETs-a i posljedično tome do njihovog smanjenog protektivnog učinka na krvnožilni sustav. Osobe koje posjeduju navedene polimorfizme su spori metabolizatori i među njima je zabilježena povećana incidencija ateroskleroze i kardiovaskularnih bolesti. ⁴⁻⁶

Isto tako, jedna francuska kohortna studija pokazuje značajni porast koncentracije proupalnih citokina, IL-6 i hs-CRP u nositelja jednog ili dva mutirana alela *CYP2C19* *2 u odnosu na nositelje divljeg tipa *CYP2C19* *1. U studiji se navodi kako se zbog sporog metabolizma arahidonske kiseline ona akumulira u makrofagima što rezultira povećanom produkcijom proupalnih citokina što može dovesti do ubrzanog razvoja ateroskleroze i posljedično kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih bolesti. Nađena je razlika među spolovima vezana uz koncentraciju hs-CRP-a. Naime žene su imale značajniji porast koncentracije hs-CRP-a što autori dovode u svezu sa utjecajem steroidnih hormona na aktivnost enzima CYP. ²⁵



SLIKA 8. Razine interleukina 6 (IL-6), tumorskog faktora nekroze (TNF α) i hs-CRP-a prema genotipovima CYP2C19 u oba spola. GG (1*/1*); GA (1*/2*); AA (2*/2*)

Prema: Bertrand-Thiebault, C., Berrahmoune¹, H., Thompson, A., Genetic Polymorphism of CYP2C19 Gene in the Stanislas Cohort. A link with Inflammation, Annals of Human Genetics (2008) 72,178–183.

6.2. POLIMORFIZAM CYP2C19 I ANTITROMBOCITNI UČINAK KLOPIDOGRELA

6.2.1. KLOPIDOGREL

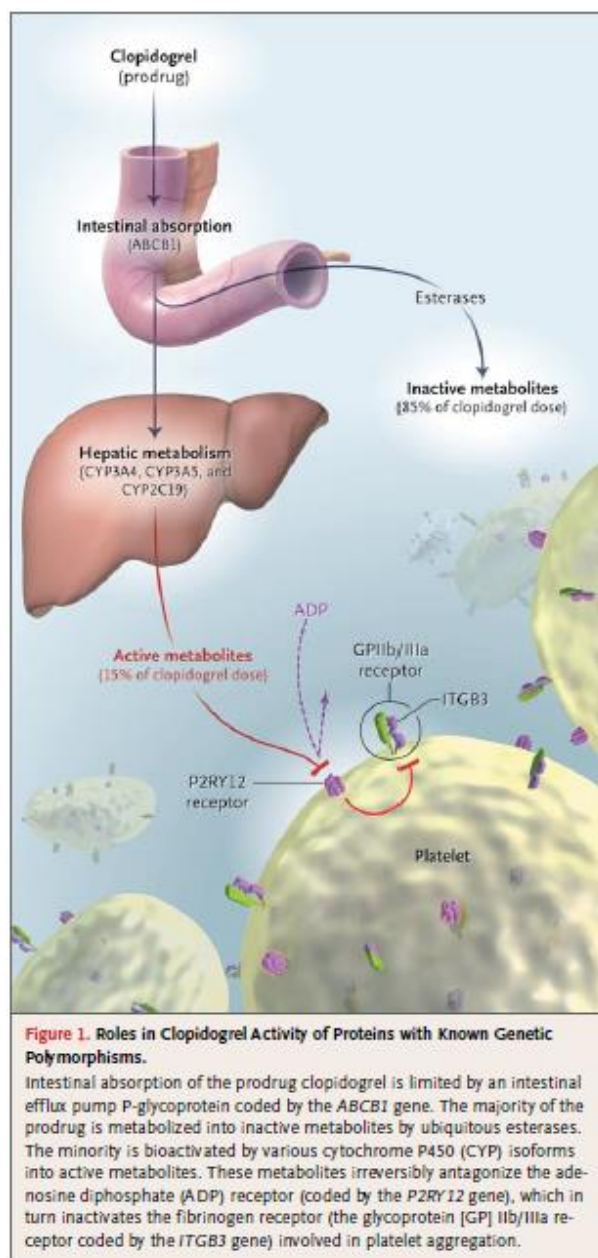
Klopidogrel je tienopiridinski derivat koji ireverzibilno inhibira receptore za ADP na površini trombocita i na taj način smanjuje njihovu agregaciju i nastanak tromba. Klopidogrel je neaktivni prolijek koji zahtijeva oksidaciju od strane jetrenog sustava CYP i time pretvorbu u aktivni metabolit. Oko 50% oralno uzete doze apsorbira se u gastrointestinalnom traktu. Samo 15% od toga se metabolizira i aktivira u jetri. Oksidacijom tiofenskog prstena klopidogrela nastaje intermedijarni metabolit (2-okso-klopidogrel). Daljnjom oksidacijom 2-okso-klopidogrela otvara se tiofenonski prsten i razbija se u karboksilnu i tiolnu skupinu. Reaktivna tiolna skupina tvori disulfidni most između jednog ili više cisteinskih ostataka receptora P2Y₁₂ i ireverzibilno ga blokira.²⁶

Nekoliko je citokroma P450 uključeno u metabolizam klopidogrela (npr. CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP3A4, CYP3A5), a najvažnije mjesto pripada enzimu CYP2C19. Eliminira se 50 % urinom, a 46% stolicom.

Indikacije za uzimanje klopidogrela su mnogobrojne i osnovna im je uloga sprječavanje aterotrombotičkih događaja. Upotrebljava se kao zlatni standard tijekom perkutane koronarne intervencije (PCI) i postavljanja stenta. Jedan je od osnovnih lijekova u liječenju akutnog koronarnog sindroma (AKS) gdje se u nestabilnoj angini i infarktu miokarda bez ST-elevacije (NSTEMI) daje u udarnoj dozi od 300 mg, zatim 75 mg dnevno oralno 14 dana do 12 mjeseci, a u kombinaciji sa aspirinom (75-100 mg) može se koristiti nedefinirano dugo. U infarktu miokarda sa ST-elevacijom (STEMI) daje se 75 mg klopidogrela dnevno u kombinaciji s aspirinom. Duljina trajanja terapije klopidogrelom ovisi o dobi. U bolesnika starijih od 75 godina ne daje se udarna doza od 300 mg, nego se odmah kreće s dozom od 75 mg.

Također se može koristiti u liječenju periferne arterijske bolesti te sekundarnoj prevenciji infarkta miokarda i moždanog udara u dozi od 75 mg dnevno kao alternativa aspirinu ili zajedno s njim u kombinaciji ukoliko bolesnik nema sklonost krvarenju ali ima visoki rizik od razvoja moždanog i srčanog udara. Može se dati kao prevencija kardioembolijskog moždanog udara (75 mg/dan) u slučaju da bolesnik nije kandidat za antikoagulantnu terapiju. Isto tako daje se dan prije stentiranja karotidne arterije u dozi od 300 mg, zatim se prelazi na dozu od 75 mg u

trajanju od mjesec dana. Antitrombotski učinak klopidogetrela ovisan je o dozi: unutar 5 sati od udarne oralne doze od 300 mg inhibirano je 80 % agregacijske trombocitne aktivnosti. Doza održavanja (75 mg) postiže maksimalnu inhibiciju trombocita. Trajanje antitrombocitnog učinka je 7-10 dana.²⁷



SLIKA 9. Uloga proteina s poznatim genetičkim polimorfizmom u aktivnosti klopidogetrela.

Prema: Simon, T., Verstuyft, C., Genetic Determinants of Response to Clopidogrel and Cardiovascular Events, N ENGL J MED 360;4, 2009.

6.2.2. POLIMORFIZAM CYP2C19 I RIZIK OD NEPOVOLJNIH KLINIČKIH DOGAĐAJA U PACIJENATA TRETIRANIH KLOPIDOGRELOM

Kratkotrajno i dugotrajno uzimanje klopidozrela u kombinaciji s aspirinom može prevenirati ponavljajuće ishemijske događaje nakon preboljelog akutnog koronarnog sindroma ili nakon perkutane koronarne intervencije (PCI). Međutim, mnogi pacijenti na toj dualnoj terapiji i dalje razviju trombotske događaje. Glavni problem u primjeni klopidozrela je prisutnost varijabilnosti odgovora na lijek i pojava rezistencije, što je povezano s povećanim rizikom tromboze.²⁸

Najčešći polimorfizam *CYP2C19* koji dovodi do smanjene funkcije enzima a time i smanjene aktivacije klopidozrela je *CYP2C19**2. Njegova učestalost je 30 % među bijelcima (homozigotnih nositelja *2/*2 je oko 5%). Varijanta *CYP2C19**3 također dovodi do smanjene katalitičke aktivnosti enzima, a prisutna je u čak i do 60% azijata (učestalost homozigotnih nositelja (*3/*3) je i do 20 %). Genetička rezistencija kao posljedica prisutnosti bar jednog varijantnog alela *CYP2C19**2/*3 podloga je za znatno povećan rizik ponavljajućih kardiovaskularnih i neurovaskularnih događaja. Mnoge studije potvrdile su da nositelji jednog ili više mutiranih alela *CYP2C19**2/*3 imaju trostruko veći rizik razvoja tromboze stenta u odnosu na nositelje divljeg tipa. Bolesnici s koronarnom bolesti koji su na terapiji klopidozrelom, a nositelji su mutiranih alela imaju dvostruki rizik od srčane smrti, dvostruki rizik za razvoj infarkta miokarda, te dvostruko veći rizik razvoja ishemijskog moždanog udara u odnosu na nositelje divljeg tipa *CYP2C19* *1/*1.^{2,26,29}

Jedna velika meta analiza koja je uključivala 20 785 bolesnika s koronarnom bolešću tretiranih klopidozrelom dokazala je značajnu razliku u pojavi nepovoljnih kliničkih događaja u populacijama različite etničke pripadnosti. Dokazana je dvostruko veća učestalost nepovoljnih kliničkih događaja u azijata nositelja mutiranih alela *CYP2C19**2 u odnosu na zapadnu populaciju. Ista studija potvrdila je da nositelji jedne ili dvije mutacije alela *CYP2C19* imaju 42% veći rizik za pojavu nepoželjnih kliničkih događaja kada su tretirani klopidozrelom u odnosu na nositelje divljeg tipa.²⁹

Najviše je ispitivanja provedeno na pacijentima s akutnim koronarnim sindromom, posebno onih koji se podvrgavaju perkutanoj koronarnoj intervenciji, no postoje i nekoliko studija s jasnim dokazom da polimorfizam *CYP2C19* ima znatan utjecaj na učinkovitost, komplikacije i prognozu ishoda terapije klopidozrelom i u bolesnika s moždanim udarom.²

Postoje dokazi da nositelji jednog ili dva alela s gubitkom funkcije za *CYP2C19* (spori metabolizatori-**2/*3*) s nedavnim događajem ishemijskog moždanog udara koji su kao sekundarnu prevenciju koristili klopido^grel u usporedbi sa osobama koji nisu nositelji (engl. *non-carriers CYP2C19 loss-of-function alleles*) imaju značajno smanjenu agregaciju trombocita i lošiji klinički ishod prema NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale) i mRS (modified Rankin Scale) skalama. Nositelji alela s gubitkom funkcije imaju smanjenu koncentraciju aktivnog metabolita klopido^greala u cirkulaciji i 25-33% smanjenu agregaciju trombocita u odnosu na nositelje divljeg tipa. Iz svega navedenog donesen je zaključak da *CYP2C19* ima značajan utjecaj na klopido^grelsku rezistenciju i na prognozu u pacijenata sa ishemijskim moždanim udarom.³⁰

Vrlo brzi metabolizatori (nositelji alela *CYP2C19*17*) pokazuju pojačan učinak klopido^grela, a time i povećan rizik krvarenja. Taj učinak se pak pokazao kao pogodan u bolesnika koji su preboljeli infarkt miokarda.²

6.2.3. INTERAKCIJE LIJEKOVA SUPSTRATA *CYP2C19*

Mnogi su lijekovi supstrat enzima *CYP2C19* te ulaze u interakcije s klopido^grelom. Sam domet interakcije ovisi o metaboličkom genotipu/fenotipu *CYP2C19* i o tome će ovisiti učinak klopido^grela i razvoj neželjenih nuspojava. Posebice se to odnosi na omeprazol (inhibitor protonske pumpe) koji dovodi do inhibicije enzima *CYP2C19* i time do još manje koncentracije aktivnog metabolita klopido^grela posebice u nositelja varijantnih alela *CYP2C19*2,*3*.

Zbog tih razloga a i zbog velike rezistencije na klopido^grel zbog polimorfizm gena *CYP2C19*, FDA (engl. *Food and Drug Administration*) je 2010. godine izdala upozorenje da bolesnici koji su spori metabolizatori za *CYP2C19* mogu imati smanjenu učinkovitost lijeka, a time i povećan rizik neželjenih kardiovaskularnih i neurovaskularnih nuspojava nakon preboljelog akutnog koronarnog sindroma (AKS) ili perkutane koronarne intervencije (PCI), u odnosu na bolesnike s normalnom funkcijom *CYP2C19*. Upravo radi toga inkorporirala je farmakogenetičko testiranje za klopido^grel u kliničku praksu i s obzirom na nalaz genotipizacije preporuča individualizaciju terapije predlažući odgovarajuću dozu klopido^grela ili zamjenu s lijekom sličnog učinka ali drugačijeg metaboličkog puta (npr. prasugrel ili ticagrelor).^{2,26}

TABLICA 9. Smjernice za primjenu klopido grela prema genotipu CYP2C19.

Prema: Scott SA i sur., Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium

Gudelines for CYP 2C19 Genotype and Clopidogrel Therapy,

Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2013.

Fenotip (Genotip)	Implikacija za klopido grel	Terapijske preporuke	Klasifikacija preporuke
Ultrabrzi metabolizatori (UM) (*1/*17, *17/*17) 5-35% bolesnika Brzi metabolizatori (EM) (*1/*1) 35-50 % bolesnika	Normalna (EM) ili povećana (UM) inhibicija trombocita; Normalna (EM) ili smanjena (UM) ostatna agregacija trombocita Alel CYP 2C19 *17 može biti povezan s povećanim rizikom krvarenja	Uputa za klopido grel-preporuka za doziranje i primjenu	Jako važna (engl. strong)
Intermedijarni metabolizatori (IM) (*1/*2) 18-45% bolesnika	Smanjena inhibicija trombocita; povećana ostatna agregacija trombocita; Povećan rizik za štetne kardiovaskularne učinke	Prasugrel ili druga alternativna terapija (ako nema kontraindikacija)	Umjerena (engl. moderate)
Spori metabolizatori (PM) (*2/*2) 2-15 % bolesnika	Znatno smanjena inhibicija trombocita; povećana ostatna agregacija trombocita; povećan rizik za štetne kardiovaskularne učinke	Prasugrel ili druga alternativna terapija (ako nema kontraindikacija)	Jaka-važna

7. ZAKLJUČAK

Uspješnost medikamentne terapije ovisi o mnogim čimbenicima ali se sve više ističe utjecaj gena. Znanstvena disciplina koja proučava ulogu nasljedstva kod interindividualnih varijacija u odgovoru na lijek, farmakogenetika/farmakogenomika, u budućnosti ima velik potencijal u vidu učinkovitosti i financijske isplativosti. Farmakogenetika nam najnovijim metodama genotipizacije omogućuje otkrivanje naslijeđene varijacije na razini DNA, odnosno identifikaciju osoba sa varijantnim genskim produktom koji ima bitnu ulogu u određivanju varijabilnosti odgovora na lijek. Na taj se način može maksimalizirati učinak lijeka, ciljanim davanjem lijeka bolesnicima koji će na njih pozitivno reagirati, odnosno izbjeći neželjene reakcije na lijek. Zadnjih 10-ak godina farmakogenetika je privukla pažnju kao disciplina koja bi se mogla primijeniti u bolničkoj skrbi za bolesnika.

Citokromi P450 (CYP) su važna skupina enzima u metabolizmu mnogih lijekova i endogenih molekula. Postoji čitav niz sakupljenih dokaza koji pokazuju važnost genotipiziranja enzima CYP. Polimorfizam CYP2C19 pokazao se kao bitan prediktor u razvoju kardiovaskularnih i kardioembolijskih događaja u bolesnika na terapiji klopidoogrelom. Sam značaj tog polimorfizma je još veći zbog činjenice da je njihova pojavnost u populaciji iznimno česta. S obzirom da su kardiovaskularne bolesti glavni zdravstveni problem razvijenog svijeta, individualizacija terapije može snažno utjecati na smanjenje incidencije tih bolesti.

Klopidoogrel se koristi kao glavni protektivni anitagregacijski lijek u razvoju tromboze nakon preboljelog infarkta miokarda ili nakon perkutane koronarne intervencije. Taj zaštitni učinak smanjuje komplikacije PCI i AKS kao što su ponovljeni infarkt miokarda, nagla srčana smrt i razvoj kardioembolijskih događaja (npr. ishemijski moždani udar). Postoje jasni dokazi da nositelji varijantnih alela *CYP2C19*2/*3* imaju smanjen terapijski učinak klopidoogrela a time i znatno češće pate od kardiovaskularnih komplikacija. Isto tako brojna su istraživanja pokazala da polimorfizam enzima CYP utječe na razvoj i progresiju ateroskleroze koja predstavlja glavni etiološki čimbenik u razvoju kardiovaskularnih i neurovaskularnih bolesti. Nositelji varijantnih alela *CYP2C19*2* ili *CYP2C19*3* imaju povećanu koncentraciju proupalnih citokina (IL-6, hs-CRP) i smanjenu koncentraciju EETs-a što može biti jedan od važnijih pokretača aterosklerotskog procesa.

Iz svega navedenog vidi se važnost optimizacije i individualizacije terapije klopidogetrom (bilo promjenom doze lijeka supstrata CYP2C19, bilo zamjenom sa srodnim lijekom) u smanjenju nuspojava lijeka i povećanju učinkovitosti protektivnog učinka na razvoj kardiovaskularnih, neurovaskularnih poremećaja i kardioembolijskih događaja kojima su ove osobe teoretski sklone zbog smanjene razgradnje arahidonske kiseline i smanjene koncentracije protektivnih čimbenika (EETs) za razvoj ateroskleroze.

S obzirom na raširenost ovih bolesti u populaciji, važnost ovakve individualizacije terapije te daljnjih istraživanja je nemjerljiva kako za pacijente tako i za farmaceutsku industriju.

8. ZAHVALE

Prije svega, htio bih se zahvaliti mentorici prof. dr. sc. Nadi Božina na mentorstvu, potpori i angažmanu u pisanju ovog rada.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Dušku Kardumu i Antoniji Ivoš što su me podupirali i onda kada sam mislio da više ne mogu.

Također, zahvaljujem svojim prijateljima na potpori i podršci.

9. LITERATURA

1. Đorđević, N., Janković, S., *Farmakogenetika- budućnost medikamentozne terapije*, Acta Medica Medianae 2007;46(2):56-61.
2. Božina, N., Macolić-Šarinić, V., *Farmakogenomika i farmakovigilancija*, Medicinska naklada, Zagreb, 2013., str. 1-36.
3. Katzung, G., Masters, B., Trevor, A., *Temeljna i klinička farmakologija*, Medicinska naklada, Zagreb, 2011., 53-66; 313.-329.
4. Tacconelli, S., Patrignani, P., *Inside epoxyeicosatrienoic acid and cardiovascular disease*, Frontiers in Pharmacology 2014;2 (239):1-6.
5. Zordoky, B., El-Kadi, A., *Effect of cytochrome P450 polymorphism on arachidonic acid metabolism and their impact on cardiovascular diseases*, Pharmacology & Therapeutics 2010; 125:446-463.
6. Aspromonte, N., Monitillo, F., Puzzovivo, A. et al, *Modulation of cardiac cytochrome P450 in patient with heart failure*, Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. 2014;10(3):327-339.
7. Sertić, J. i sur., *Klinička kemija i molekularna dijagnostika*, Medicinska naklada, Zagreb, 2007., 302-310.
8. Cox, T., Sinclair, J., *Molekularna biologija u medicini*, Medicinska naklada, Zagreb, 2000., Str. 92-93.
9. Turnpenny, P.; Ellard, S., *Emeryjeve osnove medicinske genetike*, Medicinska naklada, Zagreb, 2011., str. 185-191.
10. Božina, N., Granić, P., *Genetic polymorphisms of cytochromes P450: CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 in Croatian population*, Croatian Medical Journal 2003; 44(4):425-428.
11. World Health Organisation (1978). *Cerebrovascular Disorders (Offset Publications)*. Geneva: World Health Organization. ISBN 9241700432. OCLC 4757533
12. Carandang, R., Seshedri, S., Beiser, A. et al: *Trends in incidence, lifetime risk, severity and 30-day mortality of stroke over past 50 years*, JAMA 2006; 296:2939-2946.

13. World Health Organisation. *The international Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision*, 1992.
14. Mithitski, AB., *Trends in Survival and Recovery From stroke and Compression on Morbidity*, Stroke 2010;41:415-416.
15. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Hrvatski zdravstveno-statistički ljetopis za 2013. godinu. Zagreb, 2014.
16. Rothwell, PM., Coull, AJ., Giles, MF. *et al*, *Change in Stroke incidence, mortality, case fatality, severity and risk factors in Oxfordshire, UK from 1981 to 2004*, Lancet 2004;363:1295-1233.
17. Vrhovac, B., Jakšić, B. *et al.*, *Interna medicina*, Naklada Ljevak, Zagreb, 2008., str. 1573-1576.
18. Asplund, K., Tuomilehto, J., Stegmayr, B. *et al*, *Diagnostic criteria and quality control of the registration of stroke events in the MONICA project*, Acta Med Scand. 1998;728 (1):26–39.
19. Adams, HP., Bendixen, BH., Kappelle, LJ. *et al.*, "*Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment*", Stroke 1993;24 (1):35–41.
20. Zlokovic, BV., Wang, L., Schreiber, SS., *Haemostatic functions of the blood-brain barrier: possible implications in the pathogenesis of stroke*. In: Greenwood, J., Begley, DJ., Segal MB, editors, *New Concepts of a Blood Brain Barrier*, New York: Plenum; 1995. p. 14–5. 1
21. Kleinndorfer, D., Khoury, J., Mooma, CJ. *et al.*, *Stroke Incidence Is Decreasing in Whites But Not in Blacks: A Population-Based Estimate of Temporal Trends in Stroke Incidence From the Greater Cincinnati/Northern Kentucky Stroke Study*, Stroke 2010;41:1326-1331
22. Kolominsky-Rabas, Pl., Weber, M., Geggler, O. *et al.*, *Epidemiology of Ischaemic Stroke Subtypes According to TOAST Criteria: Incidence, Recurrence and LONG-Term Survival in Ischaemic Stroke Subtypes*, Stroke 2001;32:2735-2740.
23. Ferro, JM., *Cardioembolic stroke: an update*, Lancet neurol 2003;2:177-188.

24. Go, AS., Hylek, EM., Chang, A., *et al.*, *Anticoagulation Therapy for Stroke Prevention in Atrial Fibrillation. How Well Do Randomized Trials Translate Into Clinical Practice?* JAMA 2003; 290:2685-2692.
25. Bertrand-Thiebault, C., Berrahmoune, H., Thompson, A. *et al.*, *Genetic Polymorphism of CYP2C19 Gene in the Stanislas Cohort. A link with Inflammation*, Annals of Human Genetics 2008;72,178–183.
26. Mao, L., Jian, C., Changzhi, L. *et al.*, *Cytochrome CYP2C19 polymorphism and risk of adverse clinical event sin clopidogrel-treated patients: A meta-analysis based on 23,035 subjects*, Archives of Cardiovascular Disease 2013.;106:517-527.
27. <http://reference.medscape.com/drug/plavix-clopidogrel-342141#0>
28. Collet, J., Hulot, J., Pena, A. *et al.*, *Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study*, The Lancet 2009;373:309-317.
29. Jae-Sik, J., Kyoung-Im, C., Han-Young, J. *et al.*, *Meta-Analysis of Cytochrome P450 2C19 Polymorphism and Risk of Advrse Clinical Outcomes Among Coronary Artery Disease Patients of Different Ethnic Groups Treated With Clopidogrel*, The American Journal of Cardiology 2012;110:502-508.
30. Dong-Mei, J., Zhi-Bin, C., Mei-Juan, Z. *et al.*, *CYP 2C19 Polymorphisms and Antiplatelet Effects of Clopidogrel in Acute Ischemic Stroke in China*, Stroke 2013;44:1717-1719.

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNE INFORMACIJE



Tarle Marko

📍 Bratstvo 22, 10410 Velika Gorica (Hrvatska)

☎ +385 97 7519 096

✉ tarlemarko1@gmail.com

OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE



2005–2009 **medicinski tehničar**
Srednja škola za medicinske sestre Mlinarska, Zagreb (Hrvatska)

2009 **Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb (Hrvatska)**

RADNO ISKUSTVO

2008 **Tarle d.o.o.**

2009–2010 **Zračna luka Zagreb**
Zagreb (Hrvatska)

2011 **Štand Expo d.o.o.**

2015 **24 sata**

OSOBNE VJEŠTINE

Materinski jezik **hrvatski**

Ostali jezici

engleski

RAZUMIJEVANJE		GOVOR		PISANJE
Slušanje	Čitanje	Govorna interakcija	Govorna produkcija	
B2	B2	B2	B2	B2

Stupnjevi: A1 i A2: Početnik - B1 i B2: Samostalni korisnik - C1 i C2: Iskusni korisnik
[Zajednički europski referentni okvir za jezike](#)

Organizacijske / rukovoditeljske
vještine

Humanitarni koncert za udrugu "Veliko srce malom srcu"
"Kardio dan"- jednodnevni edukativni projekt za studente medicine

Računalne vještine

dobro vladanje alatima Microsoft Office (Word, Excel i PowerPoint)
osnovno znanje o programima grafičkog oblikovanja (Adobe Illustrator, PhotoShop)

Ostale vještine



dobrovoljni rad u Crvenom križu 2004. godine

volontiranje na 14. Festivalu jednakih mogućnosti

sudjelovanje u projektu "E-medica"

potpredsjednik Studentske sekcije za kardiologiju
(2014./2015.)

demonstrator na Katedri za histologiju i embriologiju (2011./2012.)

demonstrator na Kliničkoj propedeutici (Klinika za bolesti srca i krvnih žila,
KBC Zagreb) - 2013./2014. i 2014./2015.

sudjelovanje u izradi nacionalnog registra za akutni koronarni sindrom (ISACS)
pod vodstvom akademika Davora Miličića

član Studentske sekcije za neurologiju i Studentske sekcije za anesteziologiju.

Vozačka dozvola

B

DODATNE INFORMACIJE

Priznanja i nagrade Dekanova nagrada za najboljeg studenta 2. godine (2010./2011.)

Priznanja i nagrade Stipendist Grada Velike Gorice