

Farmakogenetska načela liječenja i preporuke za njihovu primjenu u kliničkoj praksi

Komljenović, Sven

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:500729>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Sven Komljenović

**Farmakogenetska načela liječenja i preporuke za
njihovu primjenu u kliničkoj praksi**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2017.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Specijalna područja kliničke biokemije na Zavodu za medicinsku biokemiju i hematologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, a izrađen je na Kliničkom zavodu za kemiju KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu pod stručnim vodstvom nasl.doc.dr.sc. Maria Štefanovića

Zahvala

Zahvaljujem na ukazanom povjerenju pri odabiru i izradi diplomskog rada koje mi je pružio mentor nasl.doc.dr.sc. Mario Štefanović.

Veliko hvala mojoj mami, koja je bila tu za mene tokom cijelog životnog puta, bratu i ostatku o obitelji, prijateljima te osobama koje su me motivirale da ciljам na više.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Medicinska biokemija
Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

Farmakogenetski načela liječenja i preporuke za njihovu primjenu u kliničkoj praksi

Sven Komljenović

SAŽETAK

Farmakogenetika je disciplina koja proučava interindividualne razlike u slijedu DNA, a koje dovode do varijabilnog odgovora na terapiju lijekovima. Krajnji cilj farmakogenetike jest uspostava liječenja na principima tzv. personalizirane medicine, u kojoj se svakoj osobi, odnosno bolesniku, pristupa kao pojedincu. Način na koji se to postiže je da mu se metodama molekularne dijagnostike odredi farmakogenetski status i tako pruži mogućnost prilagodbe liječenja po njegovoj mjeri.

Cilj ovog rada je sustavno prikazati ažurne informacije i smjernice farmakogenetskih principa liječenja, približiti ih i učiniti dostupnima kliničarima i drugim korisnicima, te tako potaknuti širu upotrebu farmakogenetike u kliničkoj praksi.

Poseban naglasak je stavljen na kliničku interpretaciju smjernica na kojima se temelji odabir i doziranje lijekova s varijabilnim učinkom i nuspojavama, a koje ovise o rezultatu farmakogenetskog testiranja.

Osim sustavnog prikaza smjernica iz relevantnih izvora koje su danas dostupne i primjenjive te prikaza potencijala farmakogenetike i farmakogenomike u fazama razvoja lijeka, načinjen je i kritički osvrt farmakogenetskih načela s obzirom na ograničenja koja otežavaju njihovo uvođenje u kliničku praksu. Među tim ograničenjima su cijena molekularnih testova, njihova relativna nedostupnost te složenost interpretacija rezultata.

Ovaj je rad osnova za u skoroj budućnosti planiranu izradu web stranice – priručnika na hrvatskom jeziku, koja bi kliničarima i drugim zainteresiranim korisnicima omogućila jednostavniji pristup informacijama o farmakogenetskim načelima liječenja te dostupnosti pojedinih pretraga.

U zaključku, farmakogenetika i farmakogenomika pružaju velike mogućnosti za poboljšanje kvalitete zdravstvene skrbi za svakog bolesnika. Međutim, one imaju smisla dok su ekonomski isplative, tj. određivanje terapijskog profila ne prelazi financijska sredstva koja bi bila utrošena korištenjem konvencionalnih terapijskih postupaka.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 75 stranica, 5 grafičkih prikaza, 4 tablica i 121 literaturni navod. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: farmakogenetika, farmakogenomika, genotip, farmakogenetsko testiranje, smjernice, lijekovi, polimorfizmi, personalizirana medicina

Mentor: **Dr. sc. Mario Štefanović**, naslovni docent Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Ocjenjivači: **Dr. sc. Mario Štefanović**, naslovni docent Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
Dr. sc. Jerka Dumić, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta
Dr. sc. Lidija Bach Rojecky, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta

Rad prihvaćen: srpanj 2017.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Medicinal biochemistry
Department of medicinal biochemistry and hematology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

Pharmacogenetic principles of treatment and recommendations for their application in clinical practice

Sven Komljenović

SUMMARY

Pharmacogenetics is a discipline that studies interindividual differences in DNA which cause a variable drug therapy response. The ultimate goal of pharmacogenetics is the establishment of treatment on the principles of so-called Personalized medicine, in which every person or patient is managed as an individual. The way in which it is achieved - is to determine its pharmacogenetic status by molecular diagnostic methods and thus provide the possibility of adjusting the treatment to each patient's needs.

The aim of this paper is to systematically present pharmacogenetic principles up-to-date information and treatment recommendations, to make them available to clinicians and other users, thus promoting the use of pharmacogenetics in clinical practice.

Particular emphasis has been put on the clinical interpretation of the guidelines which are the basis of drug choice and dosage, with variable outcomes and side effects that depend on the pharmacogenetic testing result.

In addition to a systematic overview of the relevant sources available and applicable today, as well as the pharmacogenetics and pharmacogenomic potential in drug development phases, a critical review of the pharmacogenetic principles has been made, with regard to the constraints that make them difficult to be introduced into clinical practice. Among these limitations are the price of molecular tests, their relative inaccessibility, and the complexity of the interpretation of results.

This work is the basis for the construction of a Croatian language website - manual in the near future, which would provide easier access to information on pharmacogenetic treatment principles and specific tests availability to clinicians and other interested users.

In conclusion, pharmacogenetics and pharmacogenomics provide great opportunities to improve the quality of health care for each patient. However, they make sense while being economically viable, i.e. determining a therapeutic profile does not exceed the financial resources that would be spent using conventional therapeutic procedures.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 75 pages, 5 figures, 4 tables and 121 references. Original is in Croatian language.

Keywords: pharmacogenetics, pharmacogenomics, genotype, pharmacogenetic testing, guidelines, drugs, polymorphisms, personalized medicine

Mentor: **Mario Štefanović, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Mario Štefanović, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Jerka Dumić, Ph.D. Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Lidija Bach Rojecky, Ph.D. Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July 2017.

SADRŽAJ:

1 UVOD.....	1
1.1 POVIJESNA STANOVIŠTA FARMAKOGENETIKE	1
1.2 PERSONALIZIRANA MEDICINA I INDIVIDUALIZIRANA TERAPIJA	2
1.2.1 Problematika vezana za regulativu u testiranja gena	4
1.3 GENOM ČOVJEKA	4
1.3.1 Promjene u ljudskom genomu	5
1.3.1.1 Mutacije	5
Polimorfizam jednog nukleotida	5
Neravnoteža vezanosti gena, eng. <i>Linkage Disequilibrium</i>	6
1.3.1.2 Haplotipovi.....	6
1.3.1.3 Etničke skupine i alelne varijante.....	6
1.3.2 Epigenetika.....	7
1.3.2.1 DNA metilacija	7
1.3.2.2 Modifikacije histona.....	8
Koordinacija epigenetskog sustava kod utišavanja ekspresije.....	8
1.3.2.3 Epigenetika i bolesti	8
1.3.2.4 Farmakoepigenetika	9
1.3.2.5 Epigenetsko liječenje	9
1.3.3 Geni kandidati	9
1.3.4 Cjelogenomski test asocijacije.....	9
1.4 PODRUČJA INTERESA FARMAKOGENETIKE	10
1.4.1 Enzimi metabolizma lijekova	10
1.4.1.1 Reakcije prve faze	11
Citokromi	11
1.4.1.2 Reakcije druge faze	14
1.4.1.3 Enzimska indukcija	14
1.4.1.4 Enzimska inhibicija	14
1.4.2 Receptori	14
1.4.2.1 Nuklearni receptori.....	15
Mineralokortikoidni receptor	15
Estrogen i estrogenski receptori	16
1.4.2.2 Površinski receptori.....	16
β_2 -adrenergički receptor	16
C-C kemokinski receptor tip 5	17
1.4.3 Transporteri	17
1.4.3.1 Transporteri lijekova	17
P-glikoprotein	17
1.4.4 Transporteri neurotransmitora	18
1.5 ISTRAŽIVANJE I RAZVOJ LIJEKA.....	19
1.5.1 Istraživanje lijeka.....	19
1.5.2 Faze razvoja lijekova	19
1.5.2.1 Preklinička istraživanja	19
1.5.2.2 Klinička istraživanja.....	19
1.6 OSTALE TEME OD ZNAČAJA ZA FARMAKOGENOMIKU.....	20
1.6.1 Molekularna dijagnostika	20
1.6.1.1 Metode	20
1.6.1.2 Izražavanje rezultata.....	21
1.6.2 Metabolomika i metabonomika	24
1.6.3 Proteomika.....	24
1.6.4 Bioinformatika.....	24
1.6.5 Baze podataka.....	25
1.6.5.1 National Center for Biotechnology Information (NCBI).....	25
1.6.5.2 International Nucleotide Sequence Database Collaboration (INSDC)	25
1.6.5.3 Uniprot	25
1.6.5.4 Pubmed	26
1.6.5.5 Baze podataka koje sadrže informacije o farmakogenetski relevantnim alelima.....	26
The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database	26
GeneCards.....	26

SNPedia	26
My Cancer Genome	26
PharmGKB.....	27
2 OBRAZLOŽENJE TEME.....	29
3 MATERIJALI I METODE.....	30
4 REZULTATI.....	31
4.1 TABLICA LIJEKOVA I FARMAKOGENETSKIH POLIMORFIZAMA ZA KOJE JE KLINIČKI UČINAK ZNAČAJAN	31
5 RASPRAVA	50
5.1 PREPORUKE ZA KORIŠTENJE FARMAKOGENETSKIH NAČELA.....	50
Preporuke za optimizaciju terapije lijekovima koji se metaboliziraju putem CYP2C9 i VKORC1	50
Preporuke za optimizaciju terapije lijekovima koji se metaboliziraju putem CYP2C19.....	52
Preporuke za optimizaciju terapije lijekovima koji se metaboliziraju putem CYP2D6.....	53
Preporuke za optimizaciju terapije tricikličkim antidepressivima koji se metaboliziraju putem CYP2C19 i CYP2D6: amitriptilin, doksepin, imipramin, klomipramin i trimipramin	56
Preporuke za optimizaciju terapije irinotekanom zasnovano na genotipu UGT1A1	56
Preporuke za optimizaciju terapije azatioprinom zasnovano na genotipu TPMT	57
Probir na faktor V Leiden mutaciju pri uvođenju oralnih kontraceptiva baziranih na estrogenu	57
Preporuke za optimizaciju terapije derivatima 5-fluoruracila: kapecitabin, tegafur i 5-FU, koji se metaboliziraju putem DPYD	57
Preporuke za optimizaciju terapije takrolimusom zasnovano na genotipu CYP3A5	58
Preporuke za optimizaciju terapije simvastatinom zasnovano na genotipu SLCO1B1	58
Preporuke za optimizaciju terapije antidepressivima i antipsihoticima zasnovano na genotipu SLC6A4	59
Procjena učinka kombinirane terapija peginterferonom i ribavirinom bazirano na genotipu IFNL3	59
Probir na pojedine haplotipove HLA-B	59
Preporuke za optimizaciju terapije razburikazom zasnovano na genotipu G6PD	60
5.2 BIOMARKERI ČIJA JE DETEKCIJA KLJUČNA PRI ODLUCI O UVOĐENJU ILI ISKLJUČIVANJU LIJEKA ZA ODREĐENA PATOLOŠKA STANJA	61
Probir na c-KIT mutaciju pri odluci o uvođenju imatiniba	61
Probir na CFTR mutaciju pri odluci o uvođenju ivakaftora	61
Probir na Bcr-ABL1 translokaciju pri odluci o uvođenju busulfana	61
5.3 POTENCIJAL, PROBLEMI I BUDUĆNOST FARMAKOGENETIKE	61
5.4 KRITIČKI OSVRT NA POTENCIJALNU PRIMJENU FARMAKOGENETSKIH NAČELA I NJIHOVA UVOĐENJA U KLINIČKU PRAKSU	63
6 ZAKLJUČCI.....	65
7 INDEKS PRIKAZANIH LIJEKOVA I GENA.....	66
8 LITERATURA.....	67
9 SAŽETAK	74
10 SUMMARY	75

9 SAŽETAK

Farmakogenetika je disciplina koja proučava interindividualne razlike u slijedu DNA, a koje dovode do varijabilnog odgovora na terapiju lijekovima. Krajnji cilj farmakogenetike jest uspostava liječenja na principima tzv. personalizirane medicine, u kojoj se svakoj osobi, odnosno bolesniku, pristupa kao pojedincu. Način na koji se to postiže je da mu se metodama molekularne dijagnostike odredi farmakogenetski status i tako pruži mogućnost prilagodbe liječenja po njegovoj mjeri.

Cilj ovog rada je sustavno prikazati ažurne informacije i smjernice farmakogenetskih principa liječenja, približiti ih i učiniti dostupnima kliničarima i drugim korisnicima, te tako potaknuti širu upotrebu farmakogenetike u kliničkoj praksi.

Poseban naglasak je stavljen na kliničku interpretaciju smjernica na kojima se temelji odabir i doziranje lijekova s varijabilnim učinkom i nuspojavama, a koje ovise o rezultatu farmakogenetskog testiranja.

Osim sustavnog prikaza smjernica iz relevantnih izvora koje su danas dostupne i primjenjive te prikaza potencijala farmakogenetike i farmakogenomike u fazama razvoja lijeka, načinjen je i kritički osvrt farmakogenetskih načela s obzirom na ograničenja koja otežavaju njihovo uvođenje u kliničku praksu. Među tim ograničenjima su cijena molekularnih testova, njihova relativna nedostupnost te složenost interpretacija rezultata.

Ovaj je rad osnova za u skoroj budućnosti planiranu izradu web stranice – priručnika na hrvatskom jeziku, koja bi kliničarima i drugim zainteresiranim korisnicima omogućila jednostavniji pristup informacijama o farmakogenetskim načelima liječenja te dostupnosti pojedinih pretraga.

U zaključku, farmakogenetika i farmakogenomika pružaju velike mogućnosti za poboljšanje kvalitete zdravstvene skrbi za svakog bolesnika. Međutim, one imaju smisla dok su ekonomski isplative, tj. određivanje terapijskog profila ne prelazi financijska sredstva koja bi bila utrošena korištenjem konvencionalnih terapijskih postupaka.

10 SUMMARY

Pharmacogenetics is a discipline that studies interindividual differences in DNA which cause a variable drug therapy response. The ultimate goal of pharmacogenetics is the establishment of treatment on the principles of so-called Personalized medicine, in which every person or patient is managed as an individual. The way in which it is achieved - is to determine its pharmacogenetic status by molecular diagnostic methods and thus provide the possibility of adjusting the treatment to each patient's needs.

The aim of this paper is to systematically present pharmacogenetic principles up-to-date information and treatment recommendations, to make them available to clinicians and other users, thus promoting the use of pharmacogenetics in clinical practice.

Particular emphasis has been put on the clinical interpretation of the guidelines which are the basis of drug choice and dosage, with variable outcomes and side effects that depend on the pharmacogenetic testing result.

In addition to a systematic overview of the relevant sources available and applicable today, as well as the pharmacogenetics and pharmacogenomic potential in drug development phases, a critical review of the pharmacogenetic principles has been made, with regard to the constraints that make them difficult to be introduced into clinical practice. Among these limitations are the price of molecular tests, their relative inaccessibility, and the complexity of the interpretation of results.

This work is the basis for the construction of a Croatian language website - manual in the near future, which would provide easier access to information on pharmacogenetic treatment principles and specific tests availability to clinicians and other interested users.

In conclusion, pharmacogenetics and pharmacogenomics provide great opportunities to improve the quality of health care for each patient. However, they make sense while being economically viable, i.e. determining a therapeutic profile does not exceed the financial resources that would be spent using conventional therapeutic procedures.

1 UVOD

1.1 Povijesna stanovišta farmakogenetike

Farmakogenetika je znanstvena disciplina koja se bavi utjecajem nasljeđa na varijabilnost u odgovoru na terapiju lijekovima.¹ Ta se disciplina afirmirala devedesetih godina prošlog stoljeća kao kombinacija farmakologije i genetike. Sam utjecaj genetike na učinak lijeka prepoznat je još u prvoj polovici 20. stoljeća u knjizi „Inborn Factors“ (Garrod, 1931) te u članku „Disease and Evolution“ (Haldane, 1949). Vogel 1959. godine uvodi pojam 'farmakogenetika'.²

Zbog razvoja velikog broja novih analitičkih metoda molekularne biologije, farmakogenetika je počela ubrzano napredovati devedesetih godina prošlog stoljeća.

Utjecaj gena se može očitovati u različitom metabolizmu lijeka, promjeni ciljne molekule na koju lijek djeluje, promjeni receptora i transportera za lijek. Promjena bilo kojeg navedenog koraka može dovesti do neprimjerenog učinka lijeka. Npr. promjena u metabolizmu može biti uzrokovana genskom promjenom strukture enzima, oštećenom transkripcijom ili translacijom, izostankom induktora ili regulatora, promjenom u promotorskoj regiji, ili nemogućnošću lijeka da dođe do enzima zbog čvrstog vezanja na transporter ili manjka transportera. Utjecaj gena je kompleksan, a osobito u poligenomskom nasljeđivanju gdje je teško procijeniti koliki je udio utjecaja genskih, a koliko vanjskih čimbenika.

S razvojem sve kompleksnijih metoda i mogućnošću analize cijelog genoma, razvilo se i područje farmakogenomike. Farmakogenomika je disciplina koja proučava genom i opisuje višestruke varijacije, interakcije i funkcije više različitih gena na farmakodinamiku i farmakokinetiku lijeka.³ Glavne stavke kojima se predviđa razdvajanje farmakogenetike i farmakogenomike su:

- Korištenje genomskih metoda kojima bi se u budućnosti trebalo unaprijediti genotipizaciju, dok bi se fenotipizacija kao starija metoda procjene učinkovitosti lijeka mogla koristiti rjeđe, ali će i dalje ostati važna u procjeni medicinskog značaja genske varijacije.
- Za razliku od farmakogenetike koja se prvenstveno bavi strukturnim varijacijama gena zbog polimorfizama i mutacija, farmakogenomika se bavi i utjecajem genske ekspresije na učinak lijekova.

- Korištenjem genomskih metoda moguće je otkriti nove ciljne molekule za lijekove, osobito za česte bolesti poput hipertenzije, astme ili shizofrenije.

1.2 Personalizirana medicina i individualizirana terapija

Personalizirana medicina se temelji na pronalaženju rješenja zdravstvenih problema korištenjem molekularne dijagnostike koja pruža mogućnost prilagođavanja dijagnostike i liječenja svakom pojedinom bolesniku, tj. zdravstvenu skrb prema osobnoj potrebi bolesnika.⁴ U podlozi ovog koncepta nalaze se razlike u ljudskom genomu te utjecaj vanjskih čimbenika. Personalizirana medicina i individualizirana terapija već su nekoliko desetljeća središnje područje interesa kliničke farmakologije i medicine.

U praksi su bitne dvije ključne stavke koje su vezane za prilagođenu terapiju: izbor i doza lijeka. Međutim, pristup liječenju je puno složeniji zbog molekularne heterogenosti u bolestima, razlikama u djelovanju lijeka između populacija, itd.⁵ Zbog toga nam je potreban cijeli set dijagnostičkih pretraga na molekularnoj razini.

Štetne reakcije lijeka [eng. *Adverse Drug Reaction (ADR)*] predstavljaju vodeće uzroke smrtnosti unatoč korištenja klinički propisanih doza zbog čega je ovo jedan od glavnih zadataka personalizirane medicine.⁶ Npr. veliki dio često primjenjivanih lijekova metabolizira se s jednim ili više enzima, koji mogu imati manjkave alele^a. Farmakogenomskom analizom mogle bi se izbjeći nepotrebne štetne reakcije lijeka te dodatni troškovi liječenja.

Preventivna terapija još je jedan od ciljeva farmakogenomike, a samim time i personalizirane medicine. Određivanjem farmakogenomskog profila, bolesniku bi se mogao odrediti dugoročni ishod te omjer koristi i rizika terapije. Zbog toga je potrebno educirati i bolesnike kako bi oni pravilno primjenjivali terapiju usklađenu s farmakogenetskim načelima.

Kako bismo personaliziranu medicinu ostvarili i u klinici, potrebna su daljnja istraživanja prospektivnih farmakogenomskih studija u razvoju te validaciji pojedinih biomarkera. Farmakogenomika može imati i osobiti doprinos u razvoju nekih uobičajenih lijekova osmišljenih za male skupine ljudi kod kojih je primijećena izražena toksičnost.

^a Varijanta određenog gena koji se nalazi na genskom lokusu (mjestu unutar kromosoma).

Dijagnostička osjetljivost^a testova za procjenu učinka lijeka koji potencijalno može biti izrazito toksičan, mora biti vrlo visoka jer je taj test ponekad jedina informacija koja nam može reći hoće li lijek biti terapijski prihvatljiv.

S druge strane, veliki izazovi za farmakogenomiku, a samim time i personaliziranu medicinu su:

- a) Određivanje utjecaja gen-okoliš u ostvarenju određenog fenotipa.
- b) Suradnja bolesnika i liječnika. Prema jednoj provedenoj studiji, 50% ljudi bi se podvrgnulo genetskom testiranju kako bi im se odredilo koji je lijek najbolji za njih. U SAD-u oko 80% liječnika i osoba koje su se podvrgnule genetskom testiranju smatra da genetsko testiranje ima pozitivan utjecaj na personaliziranu medicinu.⁷
- c) Cijena, tj. isplativost genetskih analiza. Lijekovi koji su nastali primjenom genetskih testiranja imaju visoke cijene kako bi se vratila ulaganja tih istraživanja. U državama u kojima je zdravstvo javno financirano, genetsko testiranje može biti veliki financijski teret. S druge strane, optimiziranje terapije ipak može dovesti do smanjenja ukupnih troškova zdravstva. Tako npr. psihijatrijski bolesnici s oštećenim enzimom metabolizma lijekova CYP2D6, uzrokuju povećanje troškova liječenja za oko 5.000\$ kada koriste lijekove koji se metaboliziraju tim enzimom.⁸ Veenestra je predložio 5 pravila koja bi omogućila povećanje financijske isplativosti farmakogenomskih testova:⁹

- 1) dokazati kako će kliničke i ekonomske posljedice biti izbjegnute korištenjem testova
- 2) dokazati da trenutne metode praćenja djelovanja lijeka nisu primjerene
- 3) dokazati nedvosmislenu povezanost između genotipa i (kliničkog) fenotipa
- 4) omogućiti dostupnost brzog i relativno jeftinog testa
- 5) dokazati da je u pitanju relativno česta genetička varijacija koja se želi testirati

Od 2010. godine nadalje, većina provedenih studija potvrdila je ekonomsku korist farmakogenetskih i farmakogenomskih testiranja.¹⁰

^a Dijagnostička osjetljivost testa je sposobnost testa da kod bolesnika potvrdi ispitivano stanje. Jednaka je omjeru broja pozitivnih bolesnika otkrivenih testom i stvarnom broju bolesnika.

1.2.1 Problematika vezana za regulativu u testiranja gena

DNA uzorci i osobne genetičke informacije tema su brojnih društvenih, zakonskih i etičkih rasprava. Genetička informacija osobe potencijalno može biti zlouporabljena. Osoba koja daje uzorak očekuje privatnost te da će informacija biti iskorištena samo za ono za što je namijenjena. Ako nasuprot tome stoji pretjerana regulacija - ona ograničava mogućnost novih otkrića na području genetike. Zbog toga su u genetskim istraživanjima osmišljena četiri glavna područja razmatranja:¹¹

- 1) **Informiranost** – pitanje prihvaćanja uvjeta i povjerljivosti podataka.
- 2) **Resursi** – usvajanjem farmakogenomskih načela predviđa se pad cijene razvoja lijekova, ali moguć je i njen porast ukoliko genetska testiranja u fazama razvoja i dizajniranja lijeka postanu obavezna.
- 3) **Pravičnost** – primjenom načela farmakogenomike za neke bi se bolesnike liječenje moglo značajno poboljšati, ali bi drugi dio bolesnika koji ne pripada skupini za koju je lijek razvijen mogao biti i zapostavljen i to zbog smanjene financijske motivacije za razvoj lijeka za manjinske skupine, osobito u siromašnim populacijama.
- 4) **Kontrola** – tko određuje treba li pacijent pristupiti testu i ima li pravo na lijek ako se ne podvrgne tom testu?

1.3 Genom čovjeka

Ukupna genetička informacija slijeda DNA svake naše stanice predstavlja ljudski genom. Čini ga DNA iz 23 para kromosoma koji se nalaze u jezgri stanice te mitohondrijska DNA. Diploidni genomi se sastoje od oko 6 milijardi baznih parova. Gen je određeni dio DNA koji kodira molekulu RNA. RNA tu gensku informaciju prenosi dalje - u smjeru nastanka polipeptidnog lanca koji u stanici ima određenu svrhu i funkciju (regulacijsku, metaboličku, strukturnu ili neku drugu). Procjenjuje se da ljudski genom ima oko 25.000 gena. Slijed i varijacija DNA u ljudskom genomu između svake osobe se razlikuje oko 0,1%.

Genotip čini skup svih gena (odnosno alela gena) pojedinog organizma. Fenotip čine sve osobine nekog organizma tj. sva njegova fiziološka i morfološka svojstva. Fenotip je pod utjecajem genotipa, epigenetike i vanjskih čimbenika. Fenotipska svojstva se mogu nasljeđivati monogenski i poligeniski. Monogenska svojstva su većinom produkt alelnih

varijanti određenog gena, npr. krvna grupa, albinizam, itd. Poligenika su svojstva kompleksni produkt interakcije više gena s velikim utjecajem vanjskih čimbenika. Primjeri ovakvih svojstava su boja kože, kose, očiju, ali i pojavnost npr. različitih karcinoma ili dijabetesa tipa 2. S obzirom na složenost ovih interakcija, u dešifriranju informacije DNA, RNA i svih procesa koji nose ovu informaciju - osim laboratorijskog analitičara i genetičara, danas je za napredak i interpretaciju farmakogenomskih podataka nezaobilazano uključiti i bioinformatičare.

1.3.1 Promjene u ljudskom genomu

1.3.1.1 Mutacije

Mutacija je trajna promjena u nukleotidnom slijedu DNA molekule nekog organizma ili virusa. Mutacije su rezultat različitih mehanizama koje mogu, ali i ne moraju dovesti do promjene u fenotipu organizma. One su bitne u evoluciji organizama, karcinogenezi te razvoju imunskog sustava. S obzirom da je većina mutacija nepovoljna, stanice su razvile veliki broj mehanizama kojim pokušavaju vratiti originalni slijed DNA.

Polimorfizam jednog nukleotida

Polimorfizam jednog nukleotida [eng. *Single-Nucleotide Polymorphism* (SNP)] je oblik mutacije u kojemu je jedna baza zamijenjena drugom, a u populaciji se pojavljuje frekvencijom većom od 1%. SNP-ovi su temelj osjetljivosti na razne bolesti poput cistične fibroze, Alzheimerove demencije, itd.

SNP-ovi mogu nastati u kodirajućoj ili nekodirajućoj regiji. Oni koji su nastali u kodirajućoj regiji ne moraju dovesti do promjene u slijedu aminokiselina konačno nastalog proteina budući je genetički kod degeneriran^a, ali mogu dovesti do promjene u razini ekspresije. Ovakvi SNP-ovi su sinonimni. Nesinonimni SNP-ovi u kodirajućoj regiji dovode do promjene u aminokiselini što utječe na funkciju proteina. Nesinonimni SNP-ovi mogu biti krivosmisleni [eng. *missense*] kod kojih dolazi do promjene u aminokiselini, ali ne uzrokuju prestanak translacije proteina, dok besmisleni [eng. *nonsense*] SNP-ovi uzrokuju preuranjeni prestanak u translaciji proteina. SNP-ovi u nekodirajućoj regiji mogu utjecati na prekrajanje gena, vezanje transkripcijskih faktora, razgradnju mRNA ili slijed nekodirajuće RNA.

^a Svojstvo genetičkog koda zbog kojega neke aminokiseline mogu biti kodirane s različitim trinukleotidima.

Neravnoteža vezanosti gena, eng. *Linkage Disequilibrium*

Neravnoteža vezanosti gena [eng. *Linkage Disequilibrium* (LD)] je nenasumična povezanost alela na različitim genskim lokusima, tj. SNP-ovi i DNA slijedovi koji su bliski u genomu te se zajedno nasljeđuju. Ako nema povezanosti tih alela, govorimo o *linkage equilibriumu*. LD je pod utjecajem selekcije, mutacije, brzini rekombinacije, genetičkom pomaku, sustavu razmnožavanja, populacijskoj strukturi te genetskoj povezanosti. LD ovisi o dva parametra:¹²

- 1) udaljenost između SNP-ova/slijedova DNA je obrnuto proporcionalna s LD
- 2) brzina rekombinacije je obrnuto proporcionalna s LD

1.3.1.2 Haplotipovi

Haplotip je skupina gena u organizmu koja je naslijeđena od jednog roditelja. Haplotipom se opisuje i nasljeđivanje skupa SNP-ova na određenom kromosomu koji se često pojavljuju zajedno, tj. utvrđena je njihova statistička povezanost.¹³ Budući da je moguće utvrditi statističku povezanost, određivanje pojedinačnih alela može nam dati informaciju o udaljenim polimorfizmima u haplotipu što nam olakšava analizu genomskih podataka u različitim bolestima, ali i farmakogenetici.

Haplotipove možemo podijeliti u dvije kategorije:¹⁴ **Lokalni haplotipni blokovi** su specifične kombinacije nukleotida prisutne u kraćim regijama (obično 10-100 kb). Ove blokove možemo naći kod više ljudskih populacija, dok su neki blokovi specifični za određene populacije. **Globalni haplotipovi** su specifične kombinacije nukleotida, prisutne unutar cijele dužine pojedinog kromosoma. Uglavnom ih nalazimo unutar jedne ljudske populacije. Analiza globalnog haplotipa ima potencijal za otkrivanje kompleksnih genskih i polimorfni interakcija na udaljenim mjestima u kromosomu.

Metode otkrivanja i analize lokalnih haplotipova zasnivaju se na različitim varijantama lančane reakcije polimeraze [eng. *Polymerase Chain Reaction* (PCR)] i sekvenciranja DNA.

1.3.1.3 Etničke skupine i alelne varijante

Etnička skupina, odnosno etnicitet je pripadnost ljudi određenoj društvenoj skupini koja ima zajedničku nacionalnu i društvenu tradiciju.¹⁵ Većina etničkih skupina najčešće ima divlji alel za pojedino svojstvo jer su evolucijski najučinkovitiji za preživljavanje te su se

proširili na potomke. Međutim, uočeno je da određene etničke skupine imaju veću frekvenciju pojave određenih alela koji nisu divljeg tipa. Ova pojava se može objasniti principima prilagodbe (adaptacije), tj. takvi izmijenjeni (mutirani) aleli su optimalni u okolišu gdje se određena osoba nalazi te im povećava vjerojatnost da preživi i samim time prenese svoje alele na potomke. Farmakogenetički primjer je povećana frekvencija alela 1xn i 2xn za CYP2D6 u Africi koji rezultiraju nastajanjem ultra-brzog metabolizatora, a objašnjava se dijetalnim pritiskom. Naime, prehrana određenih etničkih skupina u Africi se sastojala od biljaka koje su sadržavale biljne otrove pa je višestruko povećani metabolizam smanjavao mogućnost trovanja.^{16, 17}

1.3.2 Epigenetika

Epigenetika je grana biologije koja se bavi istraživanjem mehanizama koji aktiviraju i inaktiviraju ekspresiju gena.¹⁸ Epigenetski faktori sudjeluju u velikom broju genomske funkcije: regulacija genske aktivnosti, genomska stabilnost i segregacija kromosoma (npr. genomske utiske [eng. *Genomic imprinting*], X-inaktivacija [eng. *X-Inactivation*] te genomska obrana od parazitarne slijedove [eng. *Genome Defense Against Parasitic Sequence*]). Epigenetska regulacija ostvaruje se pomoću dva glavna mehanizma: metilacijom citozina u slijedu DNA i modifikacijom histonskih proteina oko kojih je u staničnoj jezgri omotana DNA. Povezanost ova dva mehanizma ima velik učinak na remodeliranje kromatina i promjenu ekspresije.

1.3.2.1 DNA metilacija

DNA metilacija događa se na petoj poziciji citozina, većinom u citozin-gvanindinukleotidu (CpG). DNA metilacija odvija se pomoću DNA metiltransferaza (DNMT). Metil-CpG vezujući proteini [eng. *Methyl-CpG-binding Protein (MeCP)*] su proteini koji imaju domenu zavezanje na ^{met}CpG te domenu za represiju ekspresije [eng. *Transcriptional Repressional Domain (TRD)*] s kojom se vežu s ostalim proteinima kako bi potisnuli ekspresiju.

1.3.2.2 Modifikacije histona

Post-translacijske modifikacije histona metilacijom, acetilacijom, fosforilacijom, ubikvitinizacijom, sumoilacijom ili poliADP-ribozilacijom mijenjaju strukturu nukleosoma i kondenzaciju kromatina zbog čega se mijenja ekspresija.^{19, 20}

Većina histon acetil-transferaza (HAT) funkcioniraju poput transkripcijskih koaktivatora. HAT-ovi acetiliraju ϵ -amino skupinu na lizinu što dovodi do transkripcijske aktivacije. Histon deacetilaze (HDAC) djeluju oprečno od HAT-ova deacetilirajući acetilne skupine vezane na ϵ -amino skupinu na lizinu što dovodi do kondenzacije kromatina i transkripcijske represije.

ATP-ovisni remodelirajući kompleksi koriste ATP kako bi izazvali promjenu konformacije u DNA. Promjenom konformacije, različiti proteini dobivaju pristup DNA te kontroliraju transkripciju, replikaciju ili rekombinaciju.

Metilacija ili demetilacija pomoću histon metiltransferaza (HMT) događa se na lizinu, serinu i argininu na N-krajevima histonskih repova. Tako je npr. metilacija lizina 4 na histonu 3 povezana s aktivacijom ekspresije, dok je metilacija lizina 9 na tom istom histonu povezana s utišavanjem ekspresije.²¹

Koordinacija epigenetskog sustava kod utišavanja ekspresije

Predložena su tri modela kako DNA metilacija i modifikacija histona neovisno utječu na remodeliranje kromatina i utišavanje gena:

- 1) DNA metilacija privlači metil-vezujuće proteine koji onda dovode HDAC kod metilirane regije što dovodi do deacetilacije i utišavanja gena. Kromatin zatim privlači HMT koji metilira histone i stabilizira inaktivno kromatinsko stanje.
- 2) Metilacija histona privlači heterokromatin protein 1 koji privlači DNMT-ove što održava DNA metilaciju i stabilizira inaktivni kromatin.
- 3) ATP-ovisni kompleksi izazivaju promjenu konformacije DNA što olakšava pristup DNMT-ovima, HDAC-ovima i HMT-ovima te modificira histone i metilira DNA kako bi se inaktivirao kromatin.

1.3.2.3 Epigenetika i bolesti

Velik broj bolesti je povezan s epigenetskim faktorima. Tako su npr. mutacije u genu za DNMT1 letalne, dok mutacije u MeCP-ovima mogu, ali ne moraju dovesti do nastanka patoloških stanja. Pedijatrijske bolesti poput Prader-Willi/Anglemanova sindroma su

posljedica defektnog genomskog utiska.²² Neprimjerena metilacija je povezana s karcinogenezom, sindrom imunodeficijencije, centromerne nestabilnosti i facijalne abnormalnosti (ICF sindrom), itd.

1.3.2.4 Farmakoepigenetika

Cilj ove discipline je predvidjeti odgovor na lijek i njegove nuspojave s obzirom na epigenetski status osobe. Budući su epigenetske varijacije među pojedincima puno veće od varijacija u DNA slijedu, informacije o epigenetskim polimorfizmima bi nam mogle dati saznanja o učinku na ekspresiju receptora ili enzima, tj. farmakodinamičkih i farmakokinetičkih parametara (npr. informaciju zašto osoba ipak ne metabolizira neki lijek očekivano djelotvorno iako je farmakogenetski utvrđeno da je brzi metabolizator).

1.3.2.5 Epigenetsko liječenje

Cilj ove terapije je ostvariti primjerenu ekspresiju gena. Trenutno su najkorišteniji inhibitori HDAC-a i DNMT-a. Također se razmatra uporaba sintetičkih oligodeoksinukleotida koji sadrže CpG motive, a slični su *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMPs) koji aktivira Th1 imunosni odgovor. Korištenjem ovih deoksinukleotida bi se mogao ostvariti snažniji učinak u cjepivima.

1.3.3 Geni kandidati²³

"Geni kandidati" predstavljaju pristup u istraživanju genetske povezanosti koji se zasniva na vezi između genetske varijacije u genu od interesa s fenotipom ili određenom bolesti. Najčešće se biraju oni geni koji imaju poznat utjecaj na svojstvo ili bolest. Studije tog tipa većinom su osmišljene tako da ispituju je li alelna varijanta gena kandidata češća u subjekata s određenim svojstvom/bolešću nego u zdravih subjekata.

1.3.4 Cjelogenomski test asocijacije²⁴

Cjelogenomski test asocijacije [eng. *Genome-Wide Association Study* (GWAS)] ima suprotan pristup od "gena kandidata" te proučava mnogo genetskih varijanti kod različitih pojedinaca kako bi otkrili je li određena varijanta povezana s određenim svojstvom ili bolešću.

1.4 Područja interesa farmakogenetike

Farmakokinetika (FK), uz farmakodinamiku (FD) je grana farmakologije koja opisuje sudbinu lijeka (ksenobiotika) u organizmu, tj. opisuje učinak organizma na lijek. Farmakokinetika uključuje oslobađanje lijeka iz farmaceutskog oblika (tableta, kapsula, itd.), apsorpciju lijeka u krv, distribuciju lijeka u različita tkiva i tjelesne tekućine, metabolizam koji dovodi do transformacije ili inaktivacije lijeka jer ga organizam prepoznaje kao stranu supstancu i eliminacije lijeka, premda se neki lijekovi mogu ireverzibilno akumulirati u organizmu. Farmakogenetski polimorfizmi na farmakokinetičkoj razini, poput enzima u metabolizmu, prijenosnika lijekova ili proteina plazme na koje se vežu lijekovi, bitni su za farmakološki učinak lijeka.

Farmakodinamika je grana farmakologije koja opisuje učinak lijeka na organizam, a glavni principi su djelovanje na neku ciljnu molekulu te odnos koncentracije i učinka. Ciljne molekule djelovanja mogu biti regulacijski proteini, ionski kanali, enzimi, prijenosnici, strukturni proteini, citoplazmatski proteini, dijelovi stanične stijenke bakterije, DNA, itd. Lijek se može definirati kao tvar koja svojim kemijskim učinkom uzrokuje promjenu biološke funkcije u kvantitativnom smislu (ne dolazi do stvaranja nove fiziološke funkcije, nego se moduliraju već postojeće), a svaki lijek može na biološku regulacijsku molekulu koju nazivamo **receptor** djelovati:

- **agonistički** (aktivirajuće) i to parcijalno ili u potpunosti
- **antagonistički** (inhibirajuće)
- **modulacijski** – kada mijenja učinak supstrata za određenu ciljnu molekulu; blokator; itd.²⁵

Farmakogenetski polimorfizmi na farmakodinamičkoj razini korisni su u predviđanju učinka lijeka.

1.4.1 Enzimi metabolizma lijekova

Enzimi u metabolizmu lijeka važni su za njegovu farmakokinetiku. Enzimi prepoznaju ksenobiotik te ga biotransformiraju ili inaktiviraju u određene metabolite. Nalazimo ih unutar ili izvan stanice. U metabolizmu lijekova razlikujemo kemijske biotransformacije prve i druge faze. Određeni ksenobiotici također mogu utjecati na aktivnost enzima pa razlikujemo enzimске induktore i inhibitore.

1.4.1.1 Reakcije prve faze

Reakcije prve faze su reakcije kojima se na supstrate u strukturu lijeka uvode hidrofilnije i reaktivnije skupine od izvorno prisutnih. Reakcije prve faze predvodi superobitelj citokroma P450 (CYP), ali osim nje, ove reakcije kataliziraju i alkohol dehidrogenaze (ADH), aldehid dehidrogenaze (ALDH), flavin monooksigenaze (FMO), aldo-ketoreduktaze (AKR), mijeloperoksidaze (MPO) i mnoge druge.

Citokromi

Superobitelj citokroma P450 sastoji se od 57 pojedinačnih enzima. U sastavu proteina nalazimo hem. Citokromi kataliziraju više od 70% reakcija prve faze. U velikoj mjeri su eksprimirani u jetri, a značajna je ekspresija i u stijenci tankog crijeva, mozgu i koži.²⁶

Citokrome nalazimo na membrani endoplazmatskog retikuluma i mitohondrija stanice. S farmakogenetskog stanovišta, najvažniji su polimorfni oblici CYP2D6, CYP2C9 i CYP2C19, a nešto manjeg značaja su CYP1A2, CYP2A6 i CYP3A5.

CYP2D6

Gen CYP2D6 nalazi se na kromosomu 22q13.1 te je vrlo polimorfan.²⁷ Otkriće polimorfizama u genu za CYP2D6 pripada britanskim istraživačima koji su opisali razlike u hidroksilaciji lijeka debrisoquina, ali su i neovisno Eichelbaum i suradnici opisali oksidaciju sparteina.²⁸ CYP2D6 je važan za metabolizam antidepresiva, antihipertenziva, antiaritmika, analgetika, opijata, beta blokatora, antiemetika i neuroleptika.²⁹ Alelne varijante uključuju divlji tip [eng. *wild type* (wt)] *1 te alel *2, oba s normalnom aktivnošću enzima, *null*^a alele (npr. *3 u kojem dolazi do delecije na A2637 što dovodi do pomaka u okviru čitanja, *4 kod kojeg supstitucija G1934A dovodi do nepravilnog prekrajanja, *5 kod kojeg dolazi do delecije gena, itd.) kod kojih nema aktivnog enzima te alele kod kojih dolazi do smanjene aktivnosti enzima (*10 što posljedično dovodi do supstitucije u aminokiselinama P34S i S486T). Fenotipski razlikujemo brze metabolizatore [eng. *extensive metabolizer* (EM)], srednje-brze metabolizatore [eng. *intermediate metabolizer* (IM)] kod heterozigota s divljim i mutiranim^b (najčešće *null*) alelom, spore metabolizatore [eng. *poor metabolizer* (PM)] kod homozigota za *null* alele te ultra-brze metabolizatore [eng. *ultra extensive metabolizer* (UEM)] koji nastaje kao posljedica

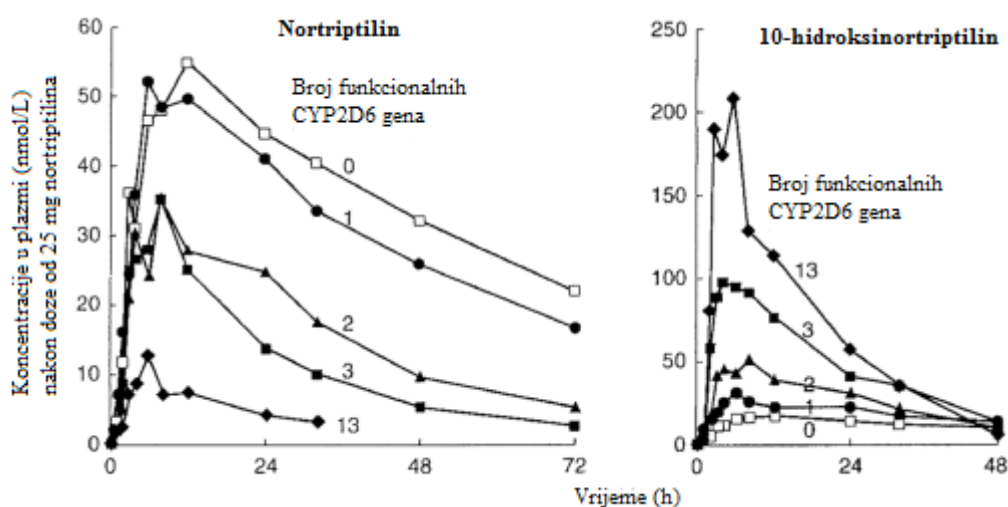
^a *Null* alel odnosi se na alel kojeg je proteinski produkt potpuno bez funkcije

^b 'mut' je generalna oznaka za mutirani alel kod kojega je izgubljena funkcija

umnažanja gena (*1xn ili *2xn) – pojave da se određeni gen nađe u nekoliko kopija i zbog toga poveća nastanak ukupnog genskog produkta. Bitno je naglasiti da su ovo izvedeni fenotipovi, tj. ne moraju odgovarati stvarnom fenotipu. Nabrojani fenotipovi su prikazani u Tablica 1.

Tablica 1. Prikaz mogućih fenotipova CYP2D6 enzima i njihovih svojstava

Fenotip	Svojstva fenotipa
Brzi metabolizator (EM)	- osoba koja ima enzim podjednake aktivnosti kao i većina populacije te je lijek konstruiran za takvog metabolizatora - bolesnici nemaju potrebu za izmjenom redovno propisane doze
Ultra-brzi metabolizator (UEM)	- osoba ima enzim povećane aktivnosti → brža biotransformacija lijeka - smanjen ili rjeđe povećan učinak lijeka kod redovno propisanih doza - bolesnici najčešće imaju potrebu za megadozama lijeka
Srednje-brzi metabolizator (IM)	- osobama enzim smanjenje aktivnosti → smanjena biotransformacija lijeka - povećan ili rjeđe smanjen učinak lijeka kod redovno propisanih doza - bolesnici najčešće imaju potrebu za smanjenim dozama lijeka
Spori metabolizator (PM)	- osoba ima enzim izrazito smanjenje aktivnosti → izrazito smanjena biotransformacija lijeka - povećan ili rjeđe smanjen učinak lijeka kod redovno propisanih doza - bolesnici najčešće imaju potrebu za izrazito smanjenim dozama lijeka



Slika 1. Srednje koncentracije nortriptilina (lijevo) i njegovog metabolita 10-hidroksinortriptilina (desno) nakon jedne oralne doze nortriptilina kod različitih genotipova u vremenu. Utjecaj UEM fenotipa na metabolizam nortriptilina i nastanak metabolita ovisi o broju kopija CYP2D6 gena (prikazano brojem pored krivulja).³⁰

CYP2C9

Gen za CYP2C9 nalazi se na 10. kromosomu te je vrlo polimorfan, a za njega je danas poznato više od 50 alelnih varijanti. CYP2C9 je značajan za metabolizam nesteroidnih protuupalnih lijekova [eng. *non-steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAIDs)],

antiepileptika, antidiijabetika te oralnih antikoagulansa. Najčešće alelne varijante uključuju divlji tip (alel *1) te polimorfne alele *2 i *3 kod kojih je aktivnost enzima višestruko smanjena (dolazi do supstitucije *C430T*, odnosno *A1075C* što dovodi do gubitka funkcije enzima). Fenotipski razlikujemo brze metabolizatore kodirane s parom divljeg alela, srednje-brze metabolizatore kod heterozigota s divljim i polimorfnim alelom te sporo metabolizirajući fenotip kod homo- i heterozigota s polimorfnim alelima. Genotipizacija CYP2C9 gena je korisna za procjenu doziranja celekoksiba, fenitoina te kumarinskih derivata.

CYP2C19

CYP2C19 je kodiran genom koji se nalazi na 10. kromosomu, u skupini sa genima CYP2C18, CYP2C9 i CYP2C8. CYP2C19 sudjeluje u metabolizmu velikog broja antidepresiva, benzodiazepina, inhibitora protonske crpke te antiagregacijskog lijeka klopidoigrela. Klinički relevantne alelne varijante su *1 ili divlji tip, *2 kod koje dolazi do supstitucije *G681A*, što dovodi do nepravilnog prekrajanja i gubitka funkcije enzima, *3, koja je besmislena supstitucija *G636A* i kodira za preuranjeni stop kodon što dovodi do gubitka funkcije te *17 kod kojih je došlo do mutacija u promotorskim mjestima *C-806T* i *C-3402T*, zbog čega je pojačana ekspresija samog gena. Navedene alelne varijante tvore 4 teorijska fenotipa (Tablica 2).

Tablica 2. Ovisnost fenotipa o alelnoj kombinaciji

Alelna kombinacija	Fenotip
wt/wt	Brzi metabolizator (EM)
wt/mut	Srednje-brzi metabolizator (IM)
mut/mut	Spori metabolizator (PM)
wt/*17, *17/*17	Ultra-brzi metabolizator (UEM)

Osim genotipa, na enzim utječe i stupanj ekspresije gena djelovanjem induktora i inhibitora. Indukcija ekspresije ovog enzima je uzrokovana velikim brojem endogenih molekula, ali i lijekovima kao što su karbamazepin, noretindron, prednizon i rifampicin. Inhibicija ekspresije, koja posljedično može uzrokovati *lijelek-lijelek* interakcije, može biti uzrokovana djelovanjem oralnih kontraceptiva, pojedinih selektivnih inhibitora ponovne pohrane serotonina [eng. *selective serotonin reuptake inhibitors* (SSRI)] te inhibitora protonske crpke.

1.4.1.2 Reakcije druge faze

Reakcije druge faze su reakcije konjugacije metabolita lijekova s različitim nabijenim skupinama. Kako bi se radilo o reakcijama konjugacije, nužan je uvjet da se ksenobiotik veže na neku endogenu molekulu.³¹ Najveći broj supstrata konjugira se pomoću porodice uridindifosfo-glukuroniltransferaza (UGT), od kojih je UGT1A1 zanimljiva u dijagnozi Gilbertova sindroma, ali i farmakogenetskom doziranju citostatika irinotekana.

Farmakogenetski su nam zanimljivi i geni za tiopurin S-metiltransferazu (TPMT) čija je uloga u metabolizmu imunosupresiva azatioprina, 6-merkaptopurina i 6-tiogvanina, N-acetiltransferazu 2 (NAT2) kod metabolizma prokarcinogenih aromatskih amina, izoniazida i sulfonamida te dihidropirimidin dehidrogenazu (DPYD) kod metabolizma 5-fluoruracila i kapecitabina zbog mogućeg letalnog ishoda terapije.

1.4.1.3 Enzimska indukcija

Enzimska indukcija je proces u kojem molekula inducira (inicira ili pojačava) ekspresiju enzima. Posljedično pojačana aktivnost enzima rezultira promijenjenim učinkom djelovanja lijeka, ali također može izmijeniti toksičnost lijeka. Najčešći lijekovi koji su induktori enzima su barbiturati, rifampicin, fenitoin, itd.³² Alkohol i pušenje su također bitni induktori enzima u metabolizmu lijekova.

1.4.1.4 Enzimska inhibicija

Enzimska inhibicija u kojem neka molekula uzrokuje smanjenje ekspresije enzima ili interferira s aktivnošću samog enzima. Enzimska inhibicija u terapijskom smislu ima manji značaj od indukcije. Promjena u doziranju lijeka zbog inhibicije se primjenjuje samo kod lijekova s uskim terapijskim indeksom. Neki od lijekova koji uzrokuju inhibiciju su: izoniazid, sulfonamidi, kloramfenikol, valproat, itd.³³ Grejp i sok grejpa je jedan od najpoznatijih neterapijskih inhibitora lijekova te konzumacija samo jednog ploda grejpa može uzrokovati inhibiciju CYP3A4 koja može dovesti do toksičnosti lijeka.³⁴

1.4.2 Receptori

Receptori pripadaju u farmakodinamsko područje farmakologije. Većina odgovora viših organizama na ksenobiotike posredovana je receptorima. Zbog toga, kako bismo razumjeli osjetljivost na ksenobiotike bitna je i informacija o varijacijama formi receptora. Prvu

strukturalnu različitost u receptorima prepoznao je Ahlquist primjetivši u istraživanjima animalnog tkiva, različiti adrenergički antagonisti imaju dva uzorka farmakološkog odgovora te je zaključio da postoje dva tipa receptora: α i β .³⁵

Razvoj molekularnih metoda ubrzano je proširio strukturne i funkcionalne analize genskih obitelji za receptore. Sam cilj farmakogenetike receptora je putem proučavanja utjecaja varijacije u DNA slijedu gena te kodiranom proteinu saznati kako receptori mijenjaju odgovor na lijek. Velik broj receptorskih obitelji je već pomno proučen. S druge strane, velik broj polimorfizama ovih gena još nije razjašnjen ili nema klinički značaj.

Receptore tradicionalno dijelimo u dvije skupine: nuklearne i površinske.

1.4.2.1 Nuklearni receptori

U nuklearne receptore spadaju regulatorni proteini koji ulaze u interakciju sa spolnim hormonima, kortizolom, tiroksinom, lijekovima, itd. Receptori su direktni prijenosnici signala kad na sebi imaju vezani ligand. Vežu se na hormon-reagirajući element [eng. *Hormone response element*] i pojačivačke elemente u genomu što uzrokuje promjenu u transkripciji. Ovi proteini su inaktivni dok se na njih ne veže ligand te se nalaze po citoplazmi vezani za proteine pratioce [eng. *chaperon*]. Vezanjem hormona, receptor mijenja konformaciju te se disocira sa proteina pratioca, homodimerizira i translocira u jezgru. Mutacije u domenama ovih receptora mogu ometati transkripciju gena i dovesti do hormonske rezistencije ili neke bolesti vezane za hormone.

Mineralokortikoidni receptor

Mineralokortikoidni receptor (MR) je zaslužan za retenciju Na^+ u bubrezima, salivarnim žlijezdama, znojnim žlijezdama i kolonu preko djelovanja aldosterona. Mutacije *ΔG1226*, *ΔT1597*, *C1831T* (preuranjeni stop kodon), *ΔA* (u mjestu za prekrajanje) tvore receptore koji su neosjetljivi na mineralokortikoidne receptore te dovode do pseudohipoaldosteronizma.³⁶ Uranjena hipertenzija uzrokovana je krivosmislenom mutacijom *S810L* u receptoru za mineralokortikoide što uzrokuje konstitutivnu aktivaciju bez prisutnosti steroidnog agonista, ali normalnu aktivaciju aldosteronom.

Kortikoidni antagonisti bez 21-hidroksi skupine poput spironolaktone uzrokuju agonistički učinak.^{36, 37} Spironolakton bi tako kod bolesnika s *S810L* mutacijom mogao biti ukinut iz razmatranja kao potencijalna terapija.

Estrogen i estrogenski receptori

Estrogeni su ključni modulatori u razvoju i diferencijaciji stanice. Zaslužni su za razvoj reproduktivnog sustava, mliječnih žlijezda, ali i raka dojke, endometrija i prostate. Postoje dva tipa receptora: ER α i ER β . Ovi receptori su genetički različiti, te su većinom eksprimirani u različitim tkivima zbog čega vjerojatno reguliraju različite setove gena.

Supstitucija *Arg157* u preuranjeni stop kodon (*C>T*) tvori receptor bez DNA-vezujuće i hormon-vezujuće domene što za posljedicu ima neosjetljivost na egzogeni estrogen.^{38, 39}

Supstitucije *L543A/L544A* ili *M547A/L548A* tvore receptor manje osjetljiv na estradiol, ali osjetljiviji na 4-hidroksi tamoksifen.⁴⁰ Krivosmislena mutacija *L540N* uzrokuje učinak pri kojem se djelovanje estrogena pretvara u ono od antiestrogena, dok za antiestrogene vrijedi obrnuto.⁴¹

1.4.2.2 Površinski receptori

Receptori na površini stanica zaslužni su za vezanje amina, proteina, polipeptidnih hormona, neurotransmitera te egzogenih kemikalija. Dijelimo ih u tri skupine:

- 1) ionski kanali i transporteri koji igraju ulogu u QT sindromu, urođenom hiperinzulinizmu, DM2, itd.
- 2) receptori koji djeluju putem enzimske kaskade i sekundarnog glasnika (adenilat ciklaza, fosfoinozitol...) kao što je β_2 -adrenergički receptor i CCR5 receptor
- 3) receptori čiji učinak ovisi o integralnoj aktivnosti enzima kao npr. inzulinski receptor

β_2 -adrenergički receptor

β_2 -adrenergički receptor je tip G-protein-vezanog receptora te je važan za djelovanje kateholamina u raznim tkivima. Polimorfizmi u genu za ovaj receptor su organizirani u 12 haplotipova te mijenjaju učinak β_2 -agonista kod astmatičara kod bolesnika na kroničnoj terapiji. Bolesnici s koji imaju GG genotip na poliformnom mjestu 46 u haplotipu (kodiraju za Gly) te imaju bolji odgovor na lijekove kao što su albuterol i salmeterol, od osoba koje imaju GA ili AA (A kodira Arg).⁴²

C-C kemokinski receptor tip 5

C-C kemokinski receptor tip 5 (CCR5) je koreceptor na zrelih T-pomagačkim limfocitima (T_H) koji omogućuje vezanje i infekciju R5 virusima kao što je HIV-1. Osobe s mutacijom ovog gena imaju urođenu otpornost prema R5 virusima.^{43, 44}

1.4.3 Transporteri

1.4.3.1 Transporteri lijekova

Transporteri lijekova spadaju u farmakokinetičku domenu te sudjeluju u prolazu lijeka kroz staničnu membranu. Transporteri koji prenose lijek u stanicu koriste elektrokemijski gradijent izmjenom ili kotransportom unutarstaničnih i/ili izvanstaničnih iona (npr. Na^+ , H^+ ili HCO_3^-). U ovu skupinu pripada porodica organskih anionskih transportnih polipeptida [eng. *Organic Anion Transporting Polypeptide* (OATP)], prijenosnika organskih aniona [eng. *Organic Anion Transporter* (OAT)], prijenosnika organskih kationa [eng. *Organic Cation Transporter* (OCT)], novih prijenosnika organskih kationa [eng. *Novel Organic Cation Transporter* (OCTN)] te porodica peptidnih prijenosnika [eng. *Peptide Transporter* (PepT)].⁴⁵ Efluks transporteri izvoze lijekove iz stanice. Većinom se radi o porodici transmembranskih prijenosnika s ATP-vezujućom domenom. Ovi prijenosnici koriste hidrolizu ATP-a kako bi prenijeli supstrat nasuprot njegovom koncentracijskom gradijentu. U ATP-vezujuće domene spadaju *Multidrug Resistance Protein* (MDR), *Multidrug Resistance-Related Protein* (MRP) porodica, izvozna pumpa za žučne kiseline [eng. *Bile Acid Efflux Transporter* (BSEP)] te *Breast Cancer Resistance Protein* (BCRP). Većina transportera sadrži izoforme te su uglavnom lokalizirani na ključnim organima zbog čega su modulatori apsorpcije, distribucije i eliminacije.

P-glikoprotein

P-glikoprotein (P-gp), također poznat kao i MDR1 je transmembranski protein koji posreduje efluks različitih endogenih i egzogenih substrata. Kodiran je ABCB1 genom koji se nalazi na 7. kromosomu. Ekspresija P-glikoproteina ovisi o različitim substratima pa tako antineoplastici koji djeluju na nuklearne receptore smanjuju ekspresiju dok npr. rifampicin povećava ekspresiju P-glikoproteina. Moduliranje aktivnosti P-glikoproteina u velikoj mjeri utječe na dispoziciju lijekova. S obzirom na mogućnost modulacije P-

glikoproteina, razvijeni su inhibitori P-glikoproteina kako bi se poboljšala doprema lijeka u stanicu.

Unatoč velikom broju ispitivanja genetskih varijanti MDR1 koji su otkrili velik broj SNP-ova i haplotipova, rezultati nisu pokazali jasan učinak na kliničke fenotipove.⁴⁶

1.4.4 Transporteri neurotransmitora

Transportere neurotransmitora nalazimo na presinaptičkim neuronima u centralnom živčanom sustavu [eng. *central nervous system* (CNS)] te služe ponovnoj pohrani neurotransmitora koji su se ranije našli u presinaptičkoj pukotini. S obzirom na raznolikost neurotransmitora, razlikujemo i velik broj transportera od kojih su farmakološki najbitniji serotoninški transporter (SERT), norepinefrinski transporter (NET) i dopaminski transporter (DAT). Oni su ujedno ciljne molekule različitih psihofarmaka. Promjene u genima za ove transportere mogu uzrokovati psihijatrijske simptome te nezadovoljavajući učinak psihofarmacima.

SERT je kodiran SLC6A4 genom te u svojoj promotorskoj regiji sadrži sekvencu baznih parova koja se ponavlja te taj varijabilni broj ponavljanja predstavlja polimorfno mjesto koje utječe na razinu ekspresije gena gdje manji broj ponavljanja tvori kratki [eng. *short* (S)] alel sa smanjenom ekspresijom, podložnošću depresiji te slabijim odgovorom na antidepresive, a dugački [eng. *long* (L)] alel s većom ekspresijom i boljim odgovorom na antidepresive. Osim polimorfizma u ponavljanju, uočen je i SNP A-1629G u dugačkom alelu koji uzrokuje smanjenu ekspresiju te je ekvivalentan kratkom alelu.⁴⁷

DAT je kodiran SLC6A3 genom, a u svojoj 3'-netranslatiranoj regiji sadrži varijabilni broj tandemske ponavljanja koji određuje razinu ekspresije gena. Primjećeno je da alel koji sadrži 10 ponavljanja ima veću ekspresiju od osoba s manjim brojem. Osobe s neprimjerenom dopaminergičnom transmisijom su sklonije razvoju ADHD-a,^a alkoholizma, Parkinsonove bolesti i shizofrenije premda sam utjecaj varijacije gena za DAT nema dovoljno jasnu poveznicu.⁴⁸

NET je kodiran SLC6A2 genom te je ciljna molekula atomoksetina kod djece s ADHD-om. Unatoč brojnim polimorfizmima u ovom genu, nije određena korelacija između genotipova za NET i odgovora na terapiju ADHD-a atomoksetinom.⁴⁹

^a Poremećaj hiperaktivnosti i deficita pažnje [eng. *Attention Deficit and Hyperactivity Disorder*]

1.5 Istraživanje i razvoj lijeka⁵⁰

Razvoj lijeka je dugačak i financijski zahtjevan proces. Uspješan razvoj lijeka zahtjeva više od 10 godina istraživanja te ulaganja do čak milijardu dolara. Karakterizira ga nizak stupanj uspješnosti s obzirom da od velikog broja početnih supstancija, malo njih završi na tržištu.

1.5.1 Istraživanje lijeka

Moderno otkrivanje lijekova se zasniva na identifikaciji ciljne molekule na koju će djelovati potencijalni lijek, traženju supstancija, kliničko-kemijskim ispitivanjima i optimizaciji supstancija kako bi se poboljšao afinitet, selektivnost, učinkovitost, metabolička stabilnost i oralna bioraspoloživost. Nakon što supstancija koja je identificirana ispuni ove kriterije, kreće se u razvojnu fazu.

1.5.2 Faze razvoja lijekova

Razvojna faza se sastoji od pretkliničkih testova na mikroorganizmima, kulturama stanica i životinjama nakon koje slijede klinička istraživanja te praćenje lijeka ako bude pušten u promet.

1.5.2.1 Pretklinička istraživanja

U ovoj se fazi istražuje toksičnost i sigurnost *in vitro* u kulturama stanica, izoliranim organima te *in vivo* animalnim modelima bolesti. Farmakogenomski potencijal u pretkliničkim istraživanjima je identificiranje gena povezanih sa čestim bolestima koji bi mogli pridonijeti boljim pretkliničkim modelima u efikasnosti lijeka.

1.5.2.2 Klinička istraživanja

Odvijaju se u 4 faze:

- 1) na zdravim dobrovoljcima (25-50) pomoću kojih se ispituje farmakokinetika, sigurnost i podnošljivost lijeka
- 2) na bolesnicima (100-200) na kojima se ispituje djelotvornost samog lijeka pomoću jednostruko slijepih ispitivanja

- 3) na velikom broju bolesnika (1000 ili više) na kojima se ispituje djelotvornost i sigurnost u dvostruko-slijepim i multi-centričnim studijama
- 4) prati se djelotvornost i nuspojave lijeka stavljenog na tržište koji je dobio odobrenje od nadležne agencije za lijekove na velikom broju bolesnika

Korištenjem farmakogenomskih biomarkera u ovoj fazi možemo dobiti informacije o promjeni ekspresije gena koji kodiraju ciljne molekule lijeka ili neke nizvodne ciljne molekule u molekularnoj (signalizacijskoj) kaskadi. Nadalje, korištenjem ovih biomarkera moglo bi se skratiti potrebno vrijeme za dugoročne studije te ubrzati vrijeme za razvoj novih lijekova. Također, genomske metode obično imaju bolju „mjerljivost“ učinkovitosti i sigurnosti lijeka. Zbog ovoga možemo dobiti širu sliku o učinku lijeka te katkad doći i do otkrića dodatnih djelovanja lijeka.

U kasnoj kliničkoj fazi razvoja lijekova, informacije dobivene farmakogenomskim testiranjem na subpopulacijama, mogu pozitivno utjecati na prilagođavanje lijeka, međutim, ta su testiranja rijetka. Većina farmakogenomskih biomarkera se prvenstveno koristi za demonstraciju učinkovitosti i sigurnosti zbog ograničenog vremena testiranja u kasnoj kliničkoj fazi koja smanjuju fleksibilnost u analizi i interpretaciji farmakogenomskih podataka.

1.6 Ostale teme od značaja za farmakogenomiku

1.6.1 Molekularna dijagnostika

Molekularna dijagnostika je disciplina koja integrira molekularnu biologiju i konvencionalnu laboratorijsku medicinu u postavljanju dijagnoze, praćenju bolesti, procjeni rizika i optimizaciji terapije. Testovi molekularne dijagnostike bitni su nam za različite grane medicine poput imunologije, infektologije, onkologije, koagulacije, itd.

1.6.1.1 Metode

Većina analiza zasniva se na određivanju specifičnog slijeda DNA molekule korištenjem metode lančane reakcije polimeraze, PCR [eng. *Polymerase Chain Reaction*]. Tijekom izvođenja PCR, određeni fragment DNA molekule razdvaja se na dva lanca na temperaturi oko 95°C te se na pojedinačne lance veže DNA početnica na temperaturi oko 55°C. Korištenjem termostabilne polimeraze, na temperaturi oko 72°C, početnica biva produljena, tj. vrši se replikacija DNA slijeda od interesa. Ovaj se ciklus ponavlja određeni

broj puta te se zatim vrši procjena veličine i uspješnost reakcije nastanka novih DNA lanaca elektroforetskim razdvajanjem i identifikacijom pomoću boja koje vežu DNA. Postoji veliki broj izvedbi ove metode kao što su: PCR u stvarnom vremenu [eng. *Real Time-PCR* (qPCR)], testovi koji koriste restriksijske endonukleaze uz PCR, testovi s alel-specifičnim oligonukleotidima, alel-specifična amplifikacija, itd.

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti [eng. *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC)] je metoda koja nam omogućava analizu DNA heterodupleksa i homodupleksa koji imaju različite mobilnosti u denaturirajućoj koloni.

Masena spektrometrija (MS) se također primjenjuje u nekim naprednijim laboratorijima. Njena *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time Of Flight* (MALDI-TOF) izvedba nam omogućava široku primjenu pri analizi više genetskih regija i mutacija.

Zbog veličine ljudskog genoma, sve se više koriste DNA čipovi koji na sebi imaju određene slijedove nukleotida i komplementarno vežu dijelove DNA iz ispitivanog uzorka, a omogućavaju jednostavnu detekciju pomoću fluorescentnih signala.

DNA mikropostroj [eng. *DNA microarray*] je metoda koja koristi veliki broj različito sintetiziranih DNA slijedova (proba) koji su kovalentno ili nekovalentno vezanina površinu mikropločice. Mikropločica je podijeljena na velik broj zasebnih mjesta [eng. *spots*], a na različitom mjestu su različite probe definiranog slijeda na koje se može vezati DNA slijed iz ispitivanog uzorka. Budući da su ove probe označene fluoroformama, omogućena je i kvantitativna analiza. Analiza ekspresije gena se ostvaruje tako što se mRNA prevede u komplementarnu DNA [eng. *complementary DNA* (cDNA)] te ovisno o količini nastale cDNA veže na probe te se kvantificira fluorescencijom.^{51, 52}

Sekvenciranje nove generacije [eng. *Next-Generation Sequencing* (NGS)] je metoda kojom se određuje slijed cijelog genoma. Platforme u NGS vrše paralelno određivanje slijeda na više milijuna dijelova genoma. S obzirom na ovoliku količinu podataka, potrebno je znanje bioinformatike kako bi se dobiveni podaci mogli mapirati i usporediti s referentnim uzorkom genoma. NGS je specifičan jer je tehnika izvedbe metode puno različitija od proizvođača do proizvođača spram ostalih analitičkih metoda.⁵³

1.6.1.2 Izražavanje rezultata

Rezultati testiranja metodama molekularne biologije prikazuju se drugačije od ostalih nalaza laboratorijske dijagnostike budući da sadrže više informacija koje trebaju biti

precizno prezentirane. Nalazi koji se izdaju, a odnose se na bolesnikov DNA moraju se čuvati trajno jer je genom konstantan osim u slučaju stečenih mutacija.

Svaki nalaz molekularne dijagnostike mora sadržavati:^{54, 55}

- 1) Instituciju koja je vršila analizu
- 2) Datum primitka uzorka
- 3) Barkod/protokol uzorka
- 4) Vrstu uzorka
- 5) Ime, prezime i datum rođenja bolesnika, a po potrebi i etničku skupinu
- 6) Naručitelja analize
- 7) Datum kada je izvršena analiza
- 8) Datum izdavanja nalaza
- 9) Analiza koja se izvodi, koje se mutacije ispituju, rezultati ispitivanja prisustva alela, genotipa i izvedenog fenotipa (koji ne mora odgovarati stvarnom fenotipu), kvantitativni rezultati u slučaju određivanja količine strane DNA ili RNA kod detekcije mikroorganizama
- 10) Metoda kojom se izvodi analiza
- 11) Objašnjenje rezultata analize s kliničkim značenjem koje može sadržavati i preporuke za dodatna testiranja i genetička savjetovanja
- 12) Literaturne podatke
- 13) Različite napomene
- 14) Potpis odgovorne osobe

Ovisno o laboratoriju, nalaz može sadržavati još dodatnih informacija.



Klinički bolnički centar SESTRE MILOSRDNICE
Klinički zavod za kemiju - Odjel za molekularnu dijagnostiku
Vinogradska 29, Zagreb, Tel.: 01/3787-432
E-mail: kzzk@kbcsm.hr; http://klinkemija.kbcsm.hr
Voditelj Odjela: doc. dr. sc. Stefanović Mario, spec. med. biokem.

Vrijeme primitka: 16.12.2016.

Vrijeme upisa: 16.12.2016.

Br. protokola: 0000

Šifra: 900 J

Liječnik:

Naručio: 36210111: PED/Pedijatrijski odjel za neurologiju s epileptologijom



Zagreb, 28. lipanj 2017.

NALAZ MOLEKULARNE DIJAGNOSTIKE

Ime Prezime (2001)

Bolesnik (rođen)

CYP2C19*2, genotipizacija citokroma P-450

Vrsta uzorka: DNA izolirana iz uzorka pune krvi s K3EDTA

Nalaz završen: 4.1.2017.

GENOTIP

2/2

INTERPRETACIJA GENOTIPA:

- ☐ Fenotip brzog metabolizma - EM (normalan)
☐ Fenotip srednje brzog metabolizma - IEM
☒ Fenotip sporog metabolizma - PM

Kliničko značenje:

Osobe PM fenotipa povećanog su rizika od neželjenih ili neuobičajenih reakcija na liječenje lijekovima koji se metaboliziraju CYP2C19 putem. Preporuča se praćenje koncentracije lijeka u krvi za sljedeće lijekove: amitriptilin, ciklofosamid, citalopram, diazepam, fenitoin, klonipramin, klopogrel, lansoprazol, moklobemid, nelfinavir, omeprazol, pantoprazol, propranolol, R-varfarin, S-mefenitoin.

Cijena (bodovi):

(162,9)

Metoda:

1) LightCycler - analiza krivulje taljenja: LightMix for the detection of human CYP2C19*2 i CYP2C19*3 (TIB MOLBIOL)

Literatura:

- 1) Rendic S. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. Drug Metabolism Reviews. 34(1-2):83-448, 2002
2) CYTOCHROME P450 DRUG-INTERACTION TABLE: CYTOCHROME P450 DRUG-INTERACTION TABLE: <http://medicine.iupui.edu/flockhart/dinlist.htm> (pristupljeno 28.2.2006) (pristupljeno 28.2.2006)
3) de Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. Journal of Biological Chemistry. 269(22):15419-22, 1994

Napomena:

Vanjsku kontrolu kvalitete provodi Njemačko društvo za kliničku kemiju (DGKL).

CYP2C19*3, genotipizacija citokroma P-450

Vrsta uzorka: DNA izolirana iz uzorka pune krvi s K3EDTA

Nalaz završen: 4.1.2017.

GENOTIP

1/1

INTERPRETACIJA GENOTIPA:

- ☒ Fenotip brzog metabolizma - EM (normalan)
☐ Fenotip srednje brzog metabolizma - IEM
☐ Fenotip sporog metabolizma - PM

Kliničko značenje:

NALAZ UREDAN.

Osobe EM fenotipa uobičajeno reagiraju na lijekove koji se značajno metaboliziraju putem CYP2C19.

Cijena (bodovi):

(162,9)

Metoda:

1) LightCycler - analiza krivulje taljenja: LightMix for the detection of human CYP2C19*2 i CYP2C19*3 (TIB MOLBIOL)

Literatura:

- 1) Rendic S. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. Drug Metabolism Reviews. 34(1-2):83-448, 2002
2) CYTOCHROME P450 DRUG-INTERACTION TABLE: CYTOCHROME P450 DRUG-INTERACTION TABLE: <http://medicine.iupui.edu/flockhart/dinlist.htm> (pristupljeno 28.2.2006) (pristupljeno 28.2.2006)
3) de Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. Journal of Biological Chemistry. 269(22):15419-22, 1994

Napomena:

Vanjsku kontrolu kvalitete provodi Njemačko društvo za kliničku kemiju (DGKL).

(odgovorna osoba)

Slika 2. Primjer nalaza molekularne dijagnostike. Izražavanje rezultata genotipizacije CYP2C19.

1.6.2 Metabolomika i metabonomika

Metabolomika je disciplina koja se bavi proučavanjem intermedijera i produkata metabolizma. Metaboličko profiliranje nam omogućava da saznamo trenutnu fiziologiju stanice. Nasuprot tome, metabonomika proširuje metaboličko profiliranje, dajući nam informacije o učinku vanjskih čimbenika na metabolizam (prehrana, toksini, bolest itd.). U analizi metaboloma, najčešće korištene tehnike su kombinacija plinske kromatografije i masene spektrometrije (GC-MS), HPLC-MS/MS i nuklearna magnetska rezonanca (NMR). Analiziranje metabolita pruža veliku količinu informacija u analizi toksičnosti lijeka u razvoju.

1.6.3 Proteomika

Proteomika je disciplina koja se bavi proučavanjem svih proteina u organizmu. Dijeli se na tri glavne skupine: **Ekspresijska se proteomika** bavi analizom diferencijalne ekspresije proteina pomoću identifikacije i kvantifikacije, tj. uspoređuje proteom kod određenih uvjeta sa standardnim proteomom. **Funkcionalna proteomika** proučava interakciju proteina i kako te interakcije određuju funkciju, bilo ona normalna ili abnormalna. **Strukturalna proteomika** bavi se strukturom i modifikacijom proteina, uglavnom analizom pomoću X-zraka i NMR analizom proteinskih kristala. Korištenje farmakoproteomike omogućava alternativni pristup u identifikaciji i validaciji proteinskih ciljnih molekula te karakterizaciji djelovanja lijeka. Zbog toga postaje sve zanimljivija farmaceutskoj industriji pri otkrivanju i razvoju lijekova.

1.6.4 Bioinformatika

Bioinformatika je interdisciplinarno područje koje razvija metode i softver za razumijevanje bioloških podataka. Bioinformatika kombinira biološke i računalne znanosti uz doprinos ostalih disciplina. Analiza složenog slijeda makromolekula je osnova istraživanja bioinformatičara. Većina bioloških struktura sastoji se od četiri razine složenosti molekule. Primarna struktura odnosi se na slijed monomernih jedinica u polimernoj makromolekuli. Tehnike analize primarne strukture se zasnivaju na standardnim računalnim algoritmima. Sekundarna struktura se odnosi na lokalnu

trodimenzionalnu strukturu makromolekule. Tercijarna struktura se zasniva na ukupnoj trodimenzionalnoj strukturi makromolekule. Kvarterna struktura predstavlja interakciju između podjedinica unutar cijele makromolekule. Analize viših struktura su puno kompleksnije.

Još jedno od bitnih područja interesa bioinformatike je 'rudarenje podataka', odnosno duboko pretraživanje literature [eng. *data mining*]. *Data mining* je proces izvlačenja kvalitetnih informacija iz gomila tekstova i baza podataka.⁵⁶

1.6.5 Baze podataka

Baza podataka je organizirana kolekcija podataka. Omogućuje nam održati korak s ogromnom količinom podataka, pretraživanje, vizualizaciju podataka te globalizaciju istraživanja. Većina relevantnih baza podataka dostupna je na Internetu.

1.6.5.1 National Center for Biotechnology Information (NCBI)

NCBI sadrži javne baze podataka, vrši istraživanja u računalnoj biologiji, razvija softver za analiziranje genomskih podataka i proširuje biomedicinske informacije. NCBI održava stranicu *GenBank*.^a NCBI-u se može pristupiti na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

1.6.5.2 International Nucleotide Sequence Database Collaboration (INSDC)^b

INSDC je udruženje koje prikuplja i proširuje baze podataka koje sadrže sekvence DNA i RNA. Sastoji se od *DNA Data Bank of Japan* (DDBJ)^c, *GenBank* i *European Nucleotide Archive* (ENA)^d.

1.6.5.3 Uniprot^e

UniPROT je baza podataka proteinskih slijedova i funkcija. Konzorcij se sastoji od *European Bioinformatics Institute* (EBI)^f, *Swiss Institute of Bioinformatics* (SIB)^a i *Protein Information Resource* (PIR)^b.

^a<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

^b<http://www.insdc.org/>

^c<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>

^d<http://www.ebi.ac.uk/ena>

^e<http://www.uniprot.org/>

^f<http://www.ebi.ac.uk/>

1.6.5.4 Pubmed^c

PubMed je tražilica koja pretražuje bazu podataka MEDLINE. MEDLINE sadrži teme iz bioloških znanosti i biomedicine.

1.6.5.5 Baze podataka koje sadrže informacije o farmakogenetski relevantnim alelima

The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database^d

Ova baza podataka sadržava informacije o promjenama nukleotida, ekspresiji i/ili aminokiselina koje se događaju kod pojedinih alela za CYP gene, a organizirana je u tablice.

GeneCards^e

GeneCards je opsežna baza podataka ljudskih gena koja je organizirana kao tražilica. Za svaki gen je opisan pseudonim, povezanost s bolešću, alelne varijante, ekspresija, struktura produkta koji nastaje, funkcija itd.

SNPedia^f

SNPedia je baza podataka o učincima različitih polimorfizama koja može biti ažurirana, brisana i izmjenjivana od bilo koga, a bazira se na recenziranim člancima.

My Cancer Genome^g

My Cancer Genome je baza podataka usmjerena na ažurirane informacije o mutacijama u različitim karcinomima te njihov učinak na mogućnosti liječenja, uključujući kliničke faze istraživanja lijeka.

^a<http://www.sib.swiss/>

^b<http://pir.georgetown.edu/>

^c<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

^d<http://www.cypalleles.ki.se/>

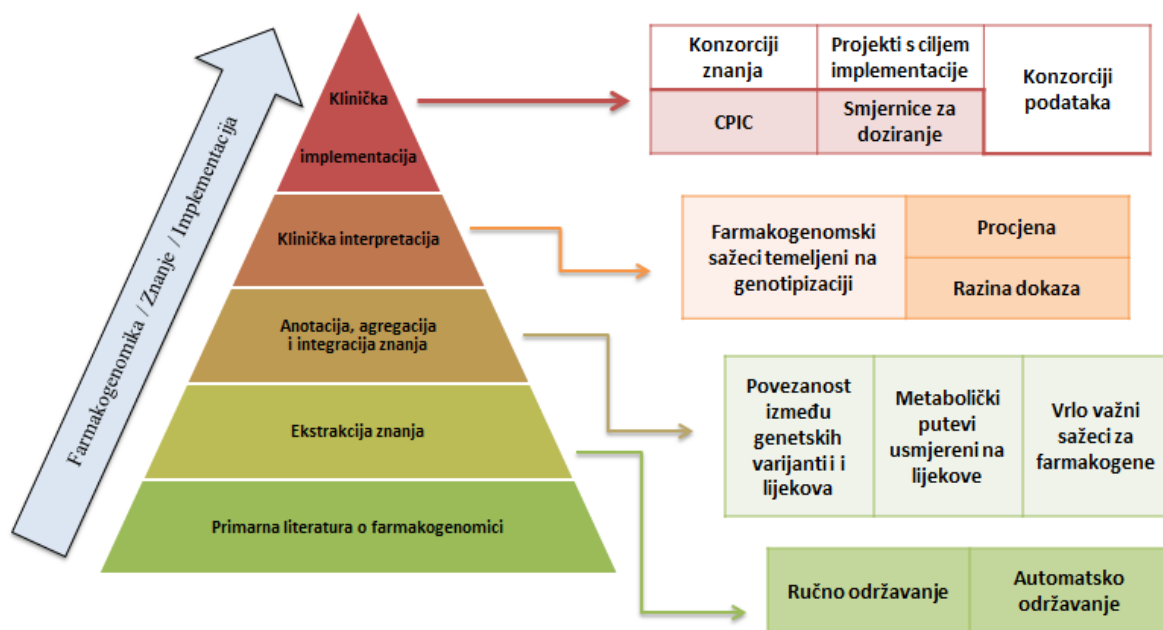
^e<http://www.genecards.org/>

^f<https://www.snpedia.com/index.php/SNPedia>

^g<https://www.mycancergenome.org>

PharmGKB^a

PharmGKB je javna baza znanja, tj. baza strukturiranih podatke iz područja farmakogenomike koji obuhvaćaju kliničke informacije za doziranje lijekova, deklariranje lijekova, poveznice između gena i lijeka te veze između genotipa i fenotipa. Glavne smjernice na PharmGKB-u dolaze od *The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium-a* (CPIC) i *Dutch Pharmacogenetics Working Group-a* (DPWG).



Slika 3: PharmGKB-ova piramida znanja.⁵⁷

The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC)

CPIC objavljuje smjernice za lijekove bazirane na genotipu kako bi kliničarima omogućili razumijevanje na koji način genetski testovi mogu poboljšati liječenje bolesnika. Svaka smjernica rabi standardni format koji sadržava razine dokaza [eng. *level of evidence* (LoE)] za poveznicu između genotipa i fenotipa, gdje:

- visoka [eng. *high*] razina dokaza sadržava dosljedne rezultate dobro osmišljenih i provedenih istraživanja
- osrednja [eng. *moderate*] razina dokaza koja ima dovoljan broj dokaza kojima bi se odredili učinci, ali je snaga dokaza ograničena brojem kvalitetnih studija te harmonizacijom u rutinsku uporabu

^a<https://www.pharmgkb.org/>

- slaba [eng. *weak*] razina dokaza kod koje nema dovoljno dokaza o učinku na zdravlje, ozbiljnim propustima u dizajniranju studije;

te snagu preporuke [eng. *strength of recommendation* (SoR)] za svaku preporuku u doziranju te informacije koje omogućuju kliničaru prijevod bolesnikovih diplotipova^a u fenotipove i/ili odgovarajuće terapijske skupine. S obzirom na SoR podjela je izvršena na tri skupine:

- jaka [eng. *strong*] snaga preporuke kod koje kvalitetnim dokazima ustanovljeno da su poželjni učinci prevagnuli nepoželjne učinke
- osrednja [eng. *moderate*] snaga preporuke kod koje postoji ravnoteža između poželjnih i nepoželjnih učinaka ili ta granica nije razjašnjena
- neobavezna [eng. *optional*] snaga preporuke kod koje su poželjni i nepoželjni učinci u ravnoteži te treba provesti raspravu o odluci provedenja testiranja.⁵⁸

Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG)

DPWG je skupina koja je osnovana od strane *the Royal Dutch Association for the Advancement of Pharmacy* s ciljem implementiranja terapijskih doza u računalne sustave za propisivanje lijekova, doziranje i automatsko praćenje terapije baziranih na farmakogenetskim podacima iz literature te obrazovanih osoba.⁵⁹

^a haplotipni par određene jedinice

2 OBRAZLOŽENJE TEME

- 1) sakupiti i sustavno prikazati podatke o klinički relevantnim farmakogenetskim/farmakogenomskim biljezima s ciljem optimiranja pristupa liječenju na principima individualizacije terapije
- 2) obuhvatiti kliničke relevantne farmakogenetske/farmakogenomske biljege i prikazati ih na pregledan, upotrebljiv dostupan način
- 3) pružiti temeljne informacije o farmakogenomici te objasniti utjecaj genotipa i fenotipa na farmakodinamiku i farmakokinetiku lijeka
- 4) objasniti ulogu farmakogenetike/farmakogenomike u personaliziranoj medicini, odnosno terapiji
- 5) opisati potencijal farmakogenetike/farmakogenomike u razvoju lijekova
- 6) pružiti informacije o izvorima ažurnih farmakogenomskih podataka (baze podataka) u svrhu poticanja kliničke primjene najnovijih spoznaja vezane uz farmakogenetiku/farmakogenomiku te dostupnosti izrade testova u Republici Hrvatskoj
- 7) stvoriti osnovu za izradu web stranice/priručnika s ažurnim farmakogenetskim smjernicama

3 MATERIJALI I METODE

Budući je ovaj diplomski rad baziran na teorijskim osnovama, sva se metodologija zasnivala na pretraživanju relevantne literature i prikupljanju podataka.

Osnova farmakogenetskih načela većinski je preuzeta iz *Pharmacogenomics Second Edition* (Werner Kalow i sur., 2005) odakle su korišteni podaci o općenitim temama farmakogenetike i farmakogenomike, personalizirane medicine, organizacije ljudskog genoma, promjenama u genima i njihovoj ekspresiji koje utječu na farmakokinetiku i farmakodinamiku lijekova i druge. Osim toga, pretražena je i dostupna literatura sa stranice NCBI-a i drugih ažurnih resursa na Internetu koji se bave temama iz farmakogenetike.

Materijali koji su korišteni u svrhu primarnog cilja ovog diplomskog rada većinski su preuzeti s glavne baze podataka o farmakogenetici i farmakogenomici: *PharmGKB* gdje su po napatku CPIC-a i DPWG-a prikazani lijekovi i klinički relevantni geni (s pojedinim alelima i genotipovima) koji mogu utjecati na farmakokinetiku i farmakodinamiku tih lijekova. Ostale relevantne baze podataka s Interneta kojima su proširene informacije o klinički relevantnim polimorfizmima su: *SNPedia*, *GeneCards* i *The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database*, dok je baza podataka *My Cancer Genome* korištena pri pretraživanju mutacija u malignim promjenama te utjecaj mutacija na odabir farmakoterapije.

Idealni primjer individualizacije terapije je stranica *warfarindosing.com* koja omogućuje točan izračun doze varfarina te se kasnije obrađuje u diskusiji.

4 REZULTATI

4.1 Tablica lijekova i farmakogenetskih polimorfizama za koje je klinički učinak značajan

U tablici koja slijedi prikazani su genetski polimorfizmi od visokog do osrednjeg stupnja kliničkog značaja prema smjernicama CPIC-a i DPWG-a. Tablica također navodi i druge biomarkere visokog stupnja značaja za unaprijeđivanje terapije na farmakogenetskim principima (koje je danas smisleno određivati metodama molekularne biologije i citogenetike). Tablica je poredana u stupce sljedećeg redoslijedom:

- 1) Relevantni geni, odnosno biomarkeri.
 - 2) Lijekovi koji su vezani za te gene, njihov naziv na engleskom jeziku te indikacija.
 - 3) Genotip i pripadajući pretpostavljeni fenotip (previđen iz genotipa zbog čega treba biti na oprezu pri njegovoj interpretaciji)
 - 4) Polimorfizmi i njihovo pojašnjenje.
 - 5) *rs oznaka* polimorfizma [od eng. *Reference SNP cluster ID*] je svojevrsni kôd kojim se precizno referira na specifični SNP.⁶⁰
 - 6) Učestalost kojom se određeni polimorfizam ili genotip [prikazano brojem u obloj zagradi] pojavljuje u populaciji. Prikazani rezultati učestalosti približno odgovaraju učestalosti polimorfizama ili genotipa u Europi, odnosno RH, zbog čega ne smiju biti korištene za udaljene etničke skupine.
 - 7) Interpretacija fenotipa.
- Metabolizam lijekova: očituje li se bolesnikov metabolizam kao povećan (↑), normalan (↔) ili smanjen (↓) spram EM, tj. većine populacije za koju je i lijek predviđen
- Transporteri i ostali enzimi: učinak alelnih varijanti na funkciju spram divljeg tipa
- Biomarkeri: učinak nepovoljnih mutacija na djelovanje biomolekula i signalnih puteva
- 8) Preporuka doze utvrđena farmakogenetskim testiranjem u cilju optimizacije terapije
 - 9) Broj ispitanika na kojem se ispitivao utjecaj polimorfizama na lijek
 - 10) Razina dokaza koja je proizašla farmakogenetičkim istraživanjima (skala: slab, osrednji, dobar, NP = nije poznato)
 - 11) Klinička značajnost mogućeg rizika prema nuspojavama, smanjenom učinku lijeka ili drugom nepovoljnom učinku uzrokovanom interakcijom gen-lijek:⁶¹

NP - nije poznato

AA - bez nepovoljnih učinaka

A - blaži nepovoljan učinak poput produljenja ispravljenog QT intervala, povećanja PV-INR-a koje nije veće od 4,5

B - kratkotrajna nelagoda (do 48 sati): npr. veći broj otkucaja srca pri mirovanju, manja tahikardija pri vježbanju, smanjeni učinak oksikodona kod bolova; potencijalni štetni učinci lijeka zbog povećane bioraspoloživosti (npr. smanjen apetit, insomnija, ostali poremećaji sna, itd.); neutropenija koja nije manja od $1,5 \times 10^9/L$; leukopenija koja nije manja od $3,0 \times 10^9/L$; trombocitopenija koja nije manja od $75 \times 10^9/L$; umjerena dijareja; smanjeno povećanje glukoze kod testa oralne tolerancije glukoze (oGTT)

C - dugotrajna nelagoda (48-168 sati) bez trajne posljedice kao npr. neuspjele terapije tricikličkim antidepressivima, atipičnim antipsihoticima; ekstrapiramidalni simptomi; štetni učinci lijeka zbog povećane bioraspoloživosti tricikličkih antidepressiva, metoprolola, propafenona (npr. vrtoglavica); INR 4,5-6,0; neutropenija $1,0-1,5 \times 10^9/L$; leukopenija $2,0-3,0 \times 10^9/L$; trombocitopenija $50-75 \times 10^9/L$

D - dugotrajna nelagoda (>168 sati) s trajnom posljedicom ili ozljedom kao npr. neuspješna profilaksa atrijalne fibrilacije; venska tromboembolija; smanjeni učinak klopogrela; nuspojave uzrokovane povećanom bioraspoloživošću fenitoina; INR > 6,0; neutropenija $0,5-1,0 \times 10^9/L$; leukopenija $1,0-2,0 \times 10^9/L$; trombocitopenija $25-50 \times 10^9/L$; teški proljev

E - mogućnost neuspjeha terapije i pojava mijelosupresije; prevencija relapsa karcinoma dojke; aritmija; neutropenija koja je manja od $0,5 \times 10^9/L$; leukopenija koja je manja od $1 \times 10^9/L$; trombocitopenija koja je manja od $25 \times 10^9/L$; po život opasne komplikacije od dijareje

F - smrt; aritmija; neočekivana mijelosupresija

12) Laboratoriji u Zagrebu koji izvide pretragu

13) Izvori i reference

14) Je li određeni lijek uvršten u listu lijekova pri Agenciji za lijekove i medicinske proizvode (HALMED)

15) Različite napomene za gen, lijek ili nešto drugo

Tablica 3. Lijekovi i pripadni farmakogeni odgovorni za prilagodbu doziranja - prema rezultatima farmakogenetičkih testiranja (smjernice CPIC i DPWG)

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
CYP2C9										
inducira ga: rifampicin; inhibira ga: amiodaron, flukokonazol i sulfafenazol										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela %	Izvor					
		*1 (wt)	-	~80	62, 63					
		*2 (C430T=Arg144Cys) (gubitak funkcije)	rs1799853	~10						
		*3 (A1075C=Ile359Leu) (gubitak funkcije)	rs1057910	~10						
acenokumarol acenocumarol (oralni antikoagulant)	EM (wt/wt)	↔ normalan	↔ D	6.811	-	-	KBCSM, KBCZg	64	Ne	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM			Dobar	F				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↑ D rezultatima INR-a							
celekoksib celecoxib (antireumatik)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke o D	NP	*1/*2 oprečni rezultati studija; *1/*3 bolji rezultati studija		NP	KBCSM, KBCZg	65	Da
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 50% ili odabrati AL		NP					
	flurbiprofen flurbiprofen (antireumatik)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM		nema preporuke	NP				
PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	nema preporuke, ↑oprez	Slab							
glibenklamid glibenclamide (antidijabetik)	/	/	nema preporuke	86	Osrednji	/	KBCSM, KBCZg	62	Da	
gliklazid gliclazide (antidijabetik)	/	/	nema preporuke	912	Osrednji	/	KBCSM, KBCZg	62	Da	
glimepirid glimepiride (antidijabetik)	/	/	nema preporuke	442	Osrednji	/	KBCSM, KBCZg	62	Da	
fenprokumon phenprocoumon (oralni antikoagulant)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke	NP	Dobar	F	KBCSM, KBCZg	59	Ne	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↑ D rezultatima INR-a							
fenitoin phenytoin (antikonvulziv)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	započeti Th s ↔ D, ↓ D održavanja 25%, odrediti KL nakon 7-10 dana te ↑ oprez	1.354	Dobar	A	KBCSM, KBCZg	62	Da	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	započeti Th s ↔ D, ↓ D održavanja 50%, odrediti KL nakon 7-10 dana te ↑ oprez							
tolbutamid tolbutamide (antidijabetik)	/	/	nema preporuku	544	Osrednji	/	KBCSM, KBCZg	59	Ne	
varfarin warfarin (oralni antikoagulant)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	koristiti warfarindosing.org	NP	Dobar	NP	KBCSM, KBCZg	62, 67	Da	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM								

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
CYP2C19 inducira ga: karbamazepin, noretindron, prednizon, rifampicin; inhibira ga: kloramfenikol, cimetidin, felbamat, fluoksetin, fluvoksamin, indometacin, ketokonazol, lansoprazol, modafinil, omeprazol, okskarbazepin, probenecid, tiklopidin, topiramat										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela %	Izvor					
		*1 (wt)	-	~87						
		*2 (G681A) (prekranje, gubitak funkcije)	rs4244285	~13	68, 69, 70					
		*3 (G636A=Trp212Stop) (Stop kodon, gubitak funkcije)	rs4986893	~1						
		*17 (C-806T) (pojačana kspresija)	rs12248560	18 [Švedska]						
amitriptilin amitriptyline (TCA)	EM (wt/wt)	↔ normalan	↔ D	NP	-	-	KBCSM, KBCZg	62	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↔ D		Dobar	NP				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 50%,pratiti KL te naknadno↓D		Osrednji	NP				
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	odabrati AL ili ↑D uz praćenje učinka		NP	NP				
citalopram citalopram (SSRIantidepresiv)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke	2.396	Dobar	A	KBCSM, KBCZg	59	Da	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	nema preporuke							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	pratiti KL te naknadno ↑D do max 150% početne D ili odabrati AL							
klomipramin clomipramine (TCA)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke	NP	Osrednji	NP	KBCSM, KBCZg	71	Ne	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D 50%,pratiti KL te naknadno ↑D							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	odabrati AL ili pratiti KL te naknadno ↑D							
klopidogrel clopidogrel (antiagregacijski prolijek)	IM (wt/mut)	↓M (↑ rizik za neuspjeh Th)	nedovoljno podataka o D, razmisliti o AL	11.785	Dobar	F	KBCSM, KBCZg	59, 72, 73	Da	
	PM (mut/mut)	↓↓M (↑ rizik za neuspjeh Th)	nedovoljno podataka o D, razmisliti o AL							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM (↑ rizik prema nuspojavama)	nema preporuke		Osrednji	A				
doksepin doxepin (TCA)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↓D 25%	NP	Osrednji	NP	KBCSM, KBCZg	62	Ne	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 50%							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	odabrati AL ili pratiti KL te naknadno ↑D							
escitalopram escitalopram (SSRI antidepresiv)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke	NP	Dobar	A	KBCSM, KBCZg	59	Da	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	nema preporuke							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	pratiti KL te naknadno ↑Ddo max 150% početne D ili odabrati AL							

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
esomeprazol <i>esomeprazole</i> (antiulkusni lijek)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke	975	Dobar	AA	KBCSM, KBCZg	59	Da	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	nema preporuke							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	↑D 50-100% te ↑oprez		NP	NP	KBCZg			
imipramin <i>imipramine</i> (TCA)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nedovoljno podataka o D, razmisлити o AL	541	Osrednji	A	KBCSM, KBCZg	59	Ne	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D 30%, pratiti KL te naknadno ↑D							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	nema preporuke		NP	NP	KBCZg			
lansoprazol <i>lansoprazole</i> (antiulkusni lijek)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke	2.304	Dobar	AA	KBCSM, KBCZg	59	Da	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	nema preporuke							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	↑D 200% te ↑oprez		NP	NP	KBCZg			
moklobemid <i>moclobemide</i> (MAO inhibitor)	/	/	nema preporuku	31	NP	NP	KBCSM, KBCZg	59	Da	
omeprazol <i>omeprazole</i> (antiulkusni lijek)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke	2.522	Dobar	AA	KBCSM, KBCZg	59	Da	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	nema preporuke							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	↑D 100-200% te ↑oprez		Osrednji	A	KBCZg			
pantoprazol <i>pantoprazole</i> (antiulkusni lijek)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke	829	Dobar	AA	KBCSM, KBCZg	59	Da	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	nema preporuke							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	↑D 400% te ↑oprez		Osrednji		KBCZg			
rabeprazol <i>rabeprazole</i> (antiulkusni lijek)	/	/	nema preporuku	2.239	NP	NP	KBCSM, KBCZg	59	Da	
sertralin <i>sertraline</i> (SSRI antidepresiv)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↔D	26	Osrednji	A C	KBCSM, KBCZg	59	Da	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 50%, pratiti KL te naknadno ↑D ili odabrati AL							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	↔D, promijeniti Th ako nema odgovora		NP	NP	KBCZg			
trimipramin <i>trimipramine</i> (TCA)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↓D 25%, pratiti KL te naknadno ↑D ili odabrati AL	NP	Osrednji	NP	KBCSM, KBCZg	62	Ne	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D 50%, pratiti KL te naknadno ↑D							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	odabrati AL ili pratiti KL te naknadno ↑D							

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
vorikonazol voriconazole (antimikotik)	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	pratiti KL te naknadno ↑D	314	Osrednji	A	KBCSM, KBCZg	59	Da	
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	pratiti KL te naknadno ↑D							
	UEM (*1/*17 ili *17/*17)	↑M naprama EM	nema preporuke							
CYP2D6 inducira ga: deksametazon, rifampicin inhibira ga: amiodaron, celekoksib, klorokin, klorpromazin, cimetidin, klomipramin, kodein, delaviridin, desipramin, diltiazem, doksorubicin, fluvoksetin, flufenazin, fluvoksamin, haloperidol, labetalol, lobelin, lomustin, metadon, mibefradil, moklobemid, paroksetin, perfenazin, propafenon, ranitidin, ritonavir, serindol, tioridazin, valproat, vinblastin, vinkristin, vinorelbin, johimbini										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela (genotipa) %		Izvor				
		*1 i *2 (wt)	-	~70						
		*1xn i *2xn (duplikacija gena)	rs1135840	~3						
		*3 (ΔA2549) (frameshift, gubitak funkcije)	rs35742686	~1						
		*4 (G1846A)(prekranjanje, gubitak funkcije)	rs3892097	~20						
		*5 (delecija cijelog gena, gubitak funkcije)	-	~5		74, 75				
		*6 (ΔT1707)(frameshift, gubitak funkcije)	rs5030655	~1,5						
		*7 (A2935C=His324Phe)(gubitak funkcije)	rs5030867	~1,5						
		*8 (G1758T=Gly169X)(gubitak funkcije)	rs5030865	< 1						
		*10 (G100C=Phe34Ser)(djelomičan gubitak funkcije)	rs1065852	1						
		*41 (G2988A)(prekranjanje, djelomičan gubitak funkcije)	rs28371725	NP						
amitriptilin amitriptyline (TCA)	EM (wt/wt)	↔ normalan	↔D	459	-	-	KBCZg	62, 59	Da	
	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	odabrati AL ili pratiti KL te naknadno ↑D	459	Osrednji	C				
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↓D 25%,pratiti KL te naknadno ↑D	459	Dobar	C				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL ili↓D 50%, pratiti KL te naknadno ↑D	459	Osrednji	A				
aripirazol aripirazole (antipsihotik)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	nema preporuke	124	NP	NP	KBCZg	59	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke		Dobar	A				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 33%			C				
atomoksetin atomoxetine (lijek za ADHD)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	nedovoljno podataka o D, razmisli o AL	10.081	NP	NP	KBCZg	59	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke		Dobar	A				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↔D, ↑oprez		Osrednji	B				
karvedilol carvedilol (beta blokator)	/	/	nema preporuku	135	/	/	KBCZg	59	Da	
klomipramin clomipramine (TCA)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	odabrati AL ili pratiti KM te naknadno↑D	272	Slab	C	KBCZg	59	Ne	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	pratiti KM te naknadno ↑D		Dobar					
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 50%, pratiti KM te naknadno ↑D							

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
klozapin <i>clozapine</i> (atipični antipsihotik)	/	/	nema preporuku	297	/	/	KBCZg	59	Da	
kodein <i>codeine</i> (opiodni analgetik)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM (↑ rizik prema nuspojavama)	odabrati AL	453	Dobar	F	KBCZg	76	Da	kodein se metabolizira u potencijni morfin
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↔D te naknadno ↓D ili odabrati AL ako nema odgovora		Osrednji	A				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL		Dobar	B				
desipramin <i>desipramine</i> (TCA)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	odabrati AL ili ↑D, pratiti KM te naknadno ↓D	NP	Osrednji	NP	KBCZg	77	Ne	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↓D 25%, pratiti KM te naknadno ↓D							
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D 50%, pratiti KM te naknadno ↓D							
doksepin <i>doxepin</i> (TCA i anksiolitik)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	odabrati AL ili ↑D 100%, pratiti KM te naknadno ↓D	76	Osrednji	A	KBCZg	59	Ne	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↓D 20%, pratiti KM te naknadno ↓D			A				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 40%, pratiti KM te naknadno ↓D			F				
duloksetin <i>duloxetine</i> (SSRI antidepresiv)	/	/	nema preporuku	0	/	/	KBCZg	59	Da	
flekainid <i>flecainide</i> (antiaritmik)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	↓D ovisno o rezultatima EKG-a i KL ili odabrati AL	145	NP	A	KBCZg	59	Ne	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↓D 25% te naknadno ↓D ovisno o rezultatima EKG-a i KL		Osrednji					
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 50% te naknadno ↓D ovisno o rezultatima EKG-a i KL		Dobar					
flupentiksol <i>flupenthixol</i> (antipsihotik)	/	/	nema preporuku	0	/	/	KBCZg	59	Ne	
fluvoxamin <i>fluvoxamine</i> (SSRI antidepresiv)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	nema preporuke, razmisliti o AL	NP	Osrednji	NP	KBCZg	78	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↔D							
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 25-50% te naknadno ↓D ili odabrati AL							
haloperidol <i>haloperidol</i> (antipsihotik)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	pratiti KL te naknadno ↓D ili odabrati AL	1.411	Dobar	C	KBCZg	59	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	nema preporuke			A				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 50% ili odabrati AL			C				

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
imipramin <i>imipramine</i> (TCA)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	odabrati AL ili ↑D 70%, pratiti KM te naknadno ↓D	268	Dobar	A	KBCZg	59	Ne	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↓D 30%, pratiti KM te naknadno ↓D							
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 70%, pratiti KM te naknadno ↓D			C				
metoprolol <i>metoprolol</i> (beta blokator)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	kod zatajenja srca odabrati AL kod svih ostalih indikacija ↓D do maksimalno 250% početneD	1.966	Dobar	D	KBCZg	59	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	kod zatajenja srca odabrati AL kod svih ostalih indikacija ↓D do maksimalno 50% početneD			B				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	kod zatajenja srca odabrati AL kod svih ostalih indikacija ↓D do maksimalno 25% početneD			C				
mirtazapin <i>mirtazapine</i> (antipsihotik)			nema preporuku	333	/	/	KBCZg	79	Da	
nortriptilin <i>nortriptyline</i> (TCA)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	odabrati AL ili ↑D 60%, pratiti KL i KM te naknadno ↓D	270	Osrednji	C	KBCZg	62, 59	Ne	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↓D40%, pratiti KL i KM te naknadno ↓D		Dobar					
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D 60%, pratiti KL i KM te naknadno ↓D		Osrednji					
olanzapin <i>olanzapine</i> (antipsihotik)	/	/	nema preporuku	201	/	/	KBCZg	80	Da	
oksikodon <i>oxycodone</i> (opioidni analgetik)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM (↑ rizik prema nuspojavama)	↑oprez ili odabrati AL	78	Objavljeni nedovršeni slučajevi	A	KBCZg	62	Da	CYP2D6 metabolizmom oksikodona nastaje aktivniji metabolit
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM (↑rizik za neupjeh Th)	↑oprez ili odabrati AL		Osrednji	NP				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM (↑rizik za neupjeh Th)	↑oprez ili odabrati AL		Osrednji	B				
paroksetin <i>paroxetine</i> (SSRI antidepressiv)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	odabrati AL	633	Dobar	C	KBCZg	62, 81	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↔D							
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D 50%,pratiti KL te naknadno ↓D			A				
propafenon <i>propafenone</i> (alfa i beta blokator)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	↑D ovisno o rezultatima EKG-a i KL ili odabrati AL	257	Osrednji	D	KBCZg	62	Da	
	IM	↓M naprama EM	↑D ovisno o rezultatima EKG-a i KL ili odabrati AL		Osrednji	A				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 70% tenaknadno ↓D ovisno o rezultatima EKG-a i KL		Dobar	C				

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
risperidon <i>risperidone</i> (antipsihotik)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	odabrati AL ili ↓D ovisno o učinku	1.721	Dobar	C	KBCZg	62	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D ovisno o učinku			C				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D ovisno o učinku			D				
tamoksifen <i>tamoxifen</i> (SERM)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM (↑rizik za neuspjeh Th)	nema preporuku	5.020	Dobar	A	KBCZg	62	Da	tamoksifen je prolijek
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM (↑ rizik prema nuspojavama)	izbjegavati korištenje inhibitora CYP2D6, razmisliti o uvođenju inhibitora aromataze kod žena u menopauzi			E				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM (↑ rizik prema nuspojavama)	izbjegavati korištenje inhibitora CYP2D6, razmisliti o uvođenju inhibitora aromataze kod žena u menopauzi			E				
tramadol <i>tramadol</i> (opioidni analgetik)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM (↑ rizik prema nuspojavama)	↓D 30% i ↑oprez ili odabrati AL	968	Osrednji	C	KBCZg	62	Da	CYP2D6 metabolizmom tramadola nastaje aktivniji metabolit
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM (↑rizik za neuspjeh Th)	↑D, naknadno ↓D te↑oprez ili odabrati AL		Dobar	B				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM (↑rizik za neuspjeh Th)	AL ili ↑D, naknadno ↓D te↑oprez		Dobar	B				
trimipramin <i>trimipramine</i> (TCA)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	odabrati AL ili pratiti KL te naknadno ↓D	NP	Osrednji	NP	KBCZg	62	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↓D 25%,pratiti KL te naknadno ↓D							
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D 50%,pratiti KL te naknadno ↓D							
venlafaksin <i>venlafaxine</i> (SSRI antidepresiv)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	pratiti KL i KM te naknadno ↓D do max 150% početne D te↑oprez ili odabrati AL	251	Dobar	A	KBCZg	62	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	odabrati AL ili pratiti pratiti KL i KM te naknadno ↓D			C				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL ili pratiti pratiti KL i KM te naknadno ↓D			C				
zuclopentiksol <i>zuclopenthixol</i> (antipsihotik)	UEM (aleli s dupliciranim genima)	↑M naprama EM	pratiti KL te naknadno ↓D ili odabrati AL	231	NP	NP	KBCZg	62	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↓D 25% ili odabrati AL		Dobar	A				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	↓D 50% ili odabrati AL		Dobar	A				

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena	
UGT1A1											
		Polimorfizmi		rs oznaka	Učestalost alela %	Izvor					
		*1 (wt)		-	~70	82					
		*28 (TA) ₇ ponavljanja u promotorskoj regiji (smanjena ekspresija za 70%)			rs8175347	26-31					
irinotekan <i>irinotecan</i> (citostatik - Ca kolona)	EM (wt/wt)	↔ normalan	↔D	3.883	-	-	KBD, KBCSM, KBCZg	59, 83	Da	u slučaju početne doze manje od 180mg/m ² genotipizacija nije potrebna	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	kod D>180mg/m ² , ↑oprez te pratiti KLi učinak		Osrednji						F
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	kod D>180mg/m ² , ↑oprez te pratiti KL i učinak kod D>250mg/m ² , ↓D30% te naknadno ↑D ovisno o broju neutrofilnih granulocita		Osrednji						E
atazanavir <i>atazanavir</i> (HIV antivirotik)	IM (wt/mut)	↓glukuronidacija bilirubina	↔D te informirati bolesnika da je žutica slabo vjerojatna s obzirom na njegov genotip	NP	NP	NP	KBD, KBCSM, KBCZg	84	Da	se ne metabolizir a s ovim enzimom, ali ga inhibira	
	PM (mut/mut)	↓↓glukuronidacija bilirubina	razmisliti o AL								
TPMT											
		Polimorfizmi		rs oznaka	Učestalost alela %	Izvor					
		*1 (wt)		-	~95	85					
		*2 (Ala80Pro) (gubitak funkcije)		NP	<1						
		TPMT*3A (Ala154Thr, Tyr240Cys) (gubitak funkcije)		NP	~5						
azatioprin <i>azathioprine</i> (imunosupresiv)	EM (wt/wt)	↔ normalan	↔D	-	-	-	KBCZg		Da		
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D 50% te naknadno ↑D ovisno o hematološkim rezultatima i učinku	2.853	Dobar	E	KBCZg	59, 73	Da		
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D 90% te naknadno ↑D ovisno o hematološkim rezultatima i učinku			F					
VKORC1											
		Polimorfizmi		rs oznaka	Učestalost %	Izvor					
		(wt)		-	~39 (wt/wt homozigot)	86					
		C1173T (ili C6484T)		rs9934438	~40 (wt/mut heterozigot)						
		G-1639A (promjena u ekspresiji)		rs9923231	~40						
varfarin <i>warfarin</i> (oralni antikoagulant)	homozigot (wt/wt)	↔ normalna aktivnost enzima	koristiti warfarindosing.org	NP	Dobar	F	KBCSM, KBCZg	67	Da		
	heterozigot (wt/mut)	↓aktivnost enzima (↑ učinak Th)									
	homozigot (mut/mut)	↓ aktivnost enzima (↑ učinak Th)									

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
acenokumarol <i>acenocumarol</i> (oralni antikoagulant)	homozigot (wt/wt)	↔ normalna aktivnost enzima	↔D	776	Dobar	A	KBCSM, KBCZg	59, 87	Ne	
	heterozigot (wt/mut)	↓ aktivnost enzima (↑ učinak Th)	nema preporuke, češće određivati INR							
	homozigot (mut/mut)	↓ aktivnost enzima (↑ učinak Th)	nema preporuke, češće određivati INR							
fenprokumon <i>phenprocoumon</i> (oralni antikoagulant)	homozigot (wt/wt)	↔ normalna aktivnost enzima	↔D	391	Dobar	A	KBCSM, KBCZg	59, 88	Ne	
	heterozigot (wt/mut)	↓ aktivnost enzima (↑ učinak Th)	nema preporuke		NP	A	KBCSM, KBCZg			
	homozigot (mut/mut)	↓ aktivnost enzima (↑ učinak Th)	nema preporuke, češće određivati INR		NP	NP	KBCSM, KBCZg			
Faktor V										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost %		Izvor				
		FV	-	~90						
		Factor V Leiden (G1691A=Arg506Gln) (rezistencija na razgradnju s aktiviranim proteinom C, hiperkoagulabilnost)	NP	3-15		89				
		homozigot (mut/mut)		<1						
oralni kontraceptivi s estrogenom <i>estrogen-containing oral contraceptives</i>	homozigot (wt/wt)	↔ normalno djelovanje akt. proteina C na aktivirani FV	↔D	7.441	-	-	KBD, KBCSM, KBCZg	59	Da	
	heterozigot (wt/mut)	↑rizik za razvoj DVT	kod pozitivne obiteljske anamneze na tromboembolijske bolesti odabrati alternativnu opciju kod negativne obiteljske anamneze izbjegavati rizične čimbenike		Dobar	D				
	homozigot (mut/mut)	↑↑ rizik (50%) za razvoj DVT	kod pozitivne obiteljske anamneze na tromboembol. bolesti odabrati alternativnu opciju kod negativne obiteljske anamneze izbjegavati rizične čimbenike		Osrednji	D				
DPYD										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela %		Izvor				
		*1 (wt)	-	(95-97)						
		*2A (G>A) (prekranjanje, gubitak funkcije)	rs3918290	(3-5)						
		*3 (ΔC1898) (gubitak funkcije)	rs72549303	(0,2)						
		*4 (G1601A=Ser534Asn) (učinak nije jasan)	rs1801158	NP		90, 91				
		*5 (T>C) (učinak nije jasan)	rs1801159	NP						
		*6 (upitno smanjena aktivnost)	rs1801160	NP						
		*9A (upitno povećana aktivnost)	rs1801265	NP						
kapecitabin <i>capecitabine</i> (citostatik, prolijek 5-FU)	EM (wt/wt)	↔ normalan	↔D	3.773	-	-	KBCZg	62, 59	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D 50% te naknadno ↑D		Osrednji	F				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL		Osrednji	F				

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
fluorouracil fluorouracil (citostatik)	EM (wt/wt)	↔ normalan	↔D	3.773	-	-	KBCZg	62, 59	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	odabrati AL ili ↓D 50% te naknadno ↑D		Osrednji	F				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL		Osrednji	F				
tegafur/uracil kombinacija tegafur/uracil combination (citostatik)	EM (wt/wt)	↔ normalan	↔D	3.773	-	-	KBCZg	62, 59	Da	
	IM (wt/mut)	↓M naprama EM	↓D 50% te naknadno ↑D		Osrednji	AA				
	PM (mut/mut)	↓↓M naprama EM	odabrati AL		Osrednji	AA				
CYP3A5										
		Polimorfizmi	rs oznaka		Učestalost alela %		Izvor			
		*1	-		<1					
		*2 (C27289A=Tyr398Asn)(djelomično smanjenje funkcije)	rs28365083		~1		92, 93			
		*3 (A6986G) (prekranjanje, smanjena funkcija)	rs776746		82-95					
		*6 (G14690A)(prekranjanje, gubitak funkcije)	rs10264272		<1					
takrolimus tacrolimus (imunosupresiv)	EM (wt/wt)	↑↑M naprama PM	↑D 50-100%, ali da ne prelazi 0,3 mg/kg/dan,pratiti KLte naknadno ↓D	1.302	Dobar	B	KBCZg	59, 92	Da	najčešći fenotip je PM te se prema njemu planira Th
	IM (wt/mut)	↑M naprama PM	↑D 50-100%, ali da ne prelazi 0,3 mg/kg/dan,pratiti KLte naknadno ↓D			D				
	PM (mut/mut)	↔ normalan	↔D, pratiti KL te naknadno ↓D			NP				
NAT2										
		Polimorfizmi	rs oznaka		Učestalost alela %		Izvor			
		haplotip: *4 (wt)	-							
		haplotip: *5 (T341C=Ile114Thr)	rs1801280		50 brzi (wt/wt ili wt/mut)		94			
		haplotip: *6 (G590A=Arg197Gln)	rs1799930		50 spori (mut/mut)					
		haplotip: *7 (G857A=Gly286Glu)	rs1799931							
izoniazid isoniazid (antituberkulotik)	Brzi (wt/wt ili wt/mut)	↔ normalan								
rifampicin rifampicin (antibiotik)	Spori (mut/mut)	↓M naprama EM								
pirazinamid pyrazinamide (antituberkulotik)	-	-	nema preporuku	NP	-	NP	KBCZg	95	Da	
izosorbid dinitirat isosorbide dinitrate (vazodilatator)	-	-								
hidralazin hydralazine (vazodilatator)	-	-								

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
ABCB1 (P-gp)										
aliskiren aliskiren (inhibitor renina)	-	-	nema preporuku	NP	-	NP	KBCZg	96	Da	Inducira ga rifampicin što može smanjiti bioraspoloživost aliskirena i do 50%.
SLCO1B1 (OATP)										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela %	Izvor					
		haplotip: *1A (wt)	rs72559745	NP						
		haplotip: *1B (wt)	rs2306283	37-46	97					
		haplotip: *5 (T37041C) (oslabljena funkcija)	rs4149056	12-20						
		haplotip: *15 (T521C i G388A) (oslabljena funkcija)		<1						
simvastatin simvastatin (hipolipemik)	normalna funkcija (wt/wt)	↔ normalna funkcija transporta	↔D te naknadno ↓D ovisno o indikaciji							
	"osrednja" funkcija (wt/mut)	↓ funkcija transporta	odabrati AL (npr. pravastatin ili rosuvastatin) ili ↓D uz određivanje CK		NP	Dobar	NP	KBCZg	98, 99	Da
	slaba funkcija (mut/mut)	↓↓ funkcija transporta	odabrati AL (npr. pravastatin ili rosuvastatin) ili ↓D uz određivanje CK							
SLC6A4 / HTTLPR (SERT)										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela %	Izvor					
		Dugački <i>long</i> [L] (insercija 43-44 nukleotida)	rs25531T	NP	100					
		Kratki <i>short</i> [S] (delecija 43-44 nukleotida)	rs25531T	NP						
SSRI antidepresivi SSRI antidepressives	LL	↑ rizik za seksualnu disfunkciju pri konzumaciji SSRI od LS i SS genotipova								
	LS	↓ rizik za seksualnu difunkciju od LL genotipa	nema preporuku		NP	Osrednji	NP	KBCZg, KBCSM	59	Da
	SS	↓ rizik za seksualnu difunkciju od LL i LS genotipova								
escitalopram escitalopram (SSRI antidepresiv)	LL	↑ odgovor na escitalopram i ↓ nuspojava nasuprot LS i SS								
	LS	↑ odgovor na escitalopram i ↓ nuspojava nasuprot SS	nema preporuku		NP	Osrednji	NP	KBCZg, KBCSM	59	Da
	SS	↓ odgovor na escitalopram i ↑ nuspojava nasuprot LS i SS								
interpretacija fenotipa zasnovana na periodu od 6 mjeseci nakon stresnog iskustva										

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
ondansetron <i>ondansetron</i> (antiemetik i lijek protiv vrtoglavice kod kemoterapije)	LL	↑dana apstitencije od LS i SS	nema preporuku	NP	Osrednji	NP	KBCZg, KBCSM	59	Ne za ovu indikaciju	preporuka se odnosi na liječenje ovisnosti o alkoholu što je u fazi istraživanja
	LS	↓ broj dana apstitencije od LL								
	SS	↓ broj dana apstitencije od LL i LS								
kvetiapin <i>quetiapine</i> (antipsihotik)	LL	↑ rizik prema nuspojavama od LS i SS	nema preporuku	NP	Osrednji	NP	KBCZg, KBCSM	59	Da	
	LS	↑ rizik prema nuspojavama od SS								
	SS	↓ rizik prema nuspojavama od LS i LL								
olanzapin <i>olanzapine</i> (antipsihotik)	LL	↑ rizik prema nuspojavama od LS i SS	nema preporuku	NP	Osrednji	NP	KBCZg, KBCSM	59	Da	ostali genetski i klinički čimbenici mogu isto utjecati na nuspojave
	LS	↑ rizik prema nuspojavama od SS								
	SS	↓ rizik prema nuspojavama od LS i LL								
risperidon <i>risperidone</i> (antipsihotik)	LL	↑ rizik prema nuspojavama od LS i SS	nema preporuku	NP	Osrednji	NP	KBCZg, KBCSM	59	Da	
	LS	↑ rizik prema nuspojavama od LS i SS								
	SS	↓ rizik prema nuspojavama od LS i LL								
SLC6A3 (DAT1)										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela %	Izvor					
		DAT1-VNTR (utjecaj na ekspresiju transportera)	rs27072	NP	101					
		T>C	rs27048	NP						
		C>A	rs2963238	NP						
-	-	DAT1-VNTR homozigot ima ↑ rizik za ADHD te apstinencijsku krizu od alkohola	nema preporuku	/	/	/	KBCZg, KBCSM	48	/	(teoretski) fenotipovi se zasnivaju na rs brojevima iz pripadajućeg reda
-	-	T>C i C>A homozigoti imaju ↑ rizik za apstinencijsku krizu od alkohola								

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
HLA-B										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela %	Izvor					
		haplotip: HLA-B*57:01	-	2	102					
		haplotip: HLA-B*58:01	-	~1						
		haplotip: HLA-B*15:02	-	<1						
abakavir <i>abacavir</i> (HIV antivirusik)	normalna funkcija (X/X)	↔ ili ↓ rizik za reakcije preosjetljivosti	↔D	3.791	Dobar	E	/	59, 103	Da	
	slaba funkcija (*57:01/*57:01 ili *57:01/*X)	↑ rizik za razvoj reakcije preosjetljivosti	odabrati AL							
alopurinol <i>allopurinol</i> (lijek za hiperuricemiju)	normalna funkcija (X/X)	↔ ili ↓ rizik za reakcije preosjetljivosti	↔D	NP	Dobar	E	/	104	Da	
	slaba funkcija (*58:01/*58:01 ili *58:01/*X)	↑ rizik za razvoj reakcije preosjetljivosti	odabrati AL							
karbamazepin <i>carbamazepine</i> (antikonvulziv)	normalna funkcija (X/X)	↔ ili ↓ rizik za reakcije preosjetljivosti	↔D	NP	Dobar	NP	/	105	Da	
	slaba funkcija (*15:02/*15:02 ili *15:02/*X)	↑ rizik za reakcije preosjetljivosti	ako bolesnik nije prethodno bio na Th odabrati AL		Dobar					
			ako je bio na Th bez nuspojava zadnjih 3 mjeseca → nastaviti Th s oprezom		Osrednji					
fenitoin <i>phenytoin</i> (antikonvulziv)	normalna funkcija (X/X)	↔ ili ↓ rizik za reakcije preosjetljivosti	↔D	NP	Dobar	NP	/	106	Da	
	slaba funkcija (*15:02/*15:02 ili *15:02/*X)	↑ rizik za reakcije preosjetljivosti	ako bolesnik nije prethodno bio na Th odabrati AL		Dobar					
			ako je bio na Th bez nuspojava zadnjih 3 mjeseca → nastaviti Th s oprezom		Osrednji					
IFNL3 (IL28B)										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela %	Izvor					
		*C	-	63	107					
		*T	rs12979860	37						
peginterferon alfa-2A/B <i>peginterferon alfa-2A/B</i> (HCV antivirusik)	normalna funkcija (C/C)	↑ vjerojatnost za smanjenje virusne RNA na nedetektabilnu koncentraciju	nema preporuke	1.171	Dobar	NP	/	107	Da	
	slaba funkcija (C/T ili T/T)	↓ vjerojatnost za smanjenje virusne RNA na nedetektabilnu koncentraciju								
ribavirin <i>ribavirin</i> (HCV antivirusik)	normalna funkcija (C/C)	↑ vjerojatnost za smanjenje virusne RNA na nedetektabilnu koncentraciju	nema preporuke	1.171	Dobar	NP	/	107	Da	
	slaba funkcija (C/T ili T/T)	↓ vjerojatnost za smanjenje virusne RNA na nedetektabilnu								

Lijek	Genotip (fenotip)	Interpretacija fenotipa	Preporuka doze	Ispitano na N ispitanika	Stupanj/ razina dokaza	Klinički značaj	Gdje se radi?	Izvor	HALMED	Napomena
koncentraciju										
G6PD										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela %		Izvor				
		Haplotip: B (wt)	-	NP		108				
		Haplotipovi (mut): Cosenza, Mediterranean, Seattle, Union, Cassano, Split		NP						
razburikaza rasburicase (rekombinantni enzim za hiperuricemiju)	normalna funkcija (wt/wt kod žena ili wt kod muškaraca)	↔aktivnost enzima	↔ D			Dobar				
	"osrednja" funkcija (wt/mut, samo kod žena)	zbog mozaicizma mogućnost nuspojava, ali i izostanak	razmisliti o odabiru Th s obzirom na aktivnost enzima	NP	Osrednji	NP	/	109	Da	
	slaba funkcija (mut/mut kod žena ili mut kod muškaraca)	↓ aktivnost enzima	odabrati AL			Dobar				
COMT										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela %		Izvor				
		*G (wt)	-	NP		110				
		*A (Val158Met) (smanjena funkcija)	rs4680	NP						
kateholamini catecholamines	normalna funkcija (wt/wt)	↑ aktivnost enzima, otpornost prema boli i stresu ↓ koncentracija dopamina i sposobnost kongnitivnih funkcija								
	"osrednja" funkcija (wt/mut)	fenotipski između normalne i slabe funkcije	nema preporuke	NP	NP	NP	KBCSM	110	Da	
	slaba funkcija (mut/mut)	↓ aktivnost enzima, otpornost prema boli i stresu ↑ koncentracija dopamina i sposobnost kongnitivnih funkcija								
ACE										
		Polimorfizmi	rs oznaka	Učestalost alela %						
		insercijski alel [I]	rs1799752	40 (homozigoti I/I ~30)						
		delecijski alel [D]	rs1799752	60 (heterozigoti I/D ~50, homozigoti D/D~20)						
ACE inhibitori ACE inhibitors	normalna funkcija (I/I)	↓ rizik za CV bolesti, bolji odgovor na ACE inhibitore								
	"osrednja" funkcija (I/D)	↔ rizik za CV bolesti, osrednji odgovor na ACE inhibitore	nema preporuke	60	Slab	NP	KBD, KBCSM, KBCZg, MFRI	111	Da	
	slaba funkcija (D/D)	↑ rizik za CV bolesti, lošiji odgovor na ACE inhibitore								

Fenotip/genotip: EM-fenotip brzog metabolizma; IM-fenotip srednjeg metabolizma; PM-fenotip sporog metabolizma; UEM-fenotip ultra-brzog metabolizma; wt-divlji tip; mut-mutirani tip

Interpretacija fenotipa: M-metabolizam lijeka ($\leftrightarrow$ - nepromijenjen; $\downarrow$ - povećan; $\uparrow$ - smanjen)

Preporuka doze: $\uparrow$ - povećati; $\downarrow$ - smanjiti; $\leftrightarrow$ - normalno, preporučeno; $\uparrow$ - prilagoditi, titrirati; D – doza lijeka; MP- metabolički put; AL-alternativni lijek koji koristi drugi metabolički put ili transportni sustav; KL-koncentracija lijeka; KM-koncentracija metabolita; Th – terapija; NP-nije poznato

Klinički značaj: NP - nije poznato

AA - bez nepovoljnih učinaka

A – blaži nepovoljan učinak poput produljenja ispravljenog QT intervala, povećanja INR-a koje nije veće od 4,5

B - kratkotrajna nelagoda (do 48h): npr. veći broj otkucaja srca pri mirovanju, manja tahikardija pri vježbanju, smanjeni učinak oksikodona kod bolova; potencijalni štetni učinci lijeka zbog povećane bioraspoloživosti (npr. smanjen apetit, insomnija, ostali poremećaji sna, itd.); neutropenija koja nije manja od $1,5 \times 10^9/L$; leukopenija koja nije manja od $3,0 \times 10^9/L$; trombocitopenija koja nije manja od $75 \times 10^9/L$; umjerena dijareja; smanjeno povećanje glukoze kod testa oralne tolerancije glukoze (oGTT).

C - dugotrajna nelagoda (48-168 sati) bez trajne posljedice kao npr. neuspjele terapije tricikličkim antidepresivima, atipičnim antipsihoticima; ekstrapiramidalni simptomi; štetni učinci lijeka zbog povećane bioraspoloživosti tricikličkih antidepresiva, metoprolola, propafenona (npr. vrtoglavica); INR 4,5-6,0; neutropenija $1,0-1,5 \times 10^9/L$; leukopenija $2,0-3,0 \times 10^9/L$; trombocitopenija $50-75 \times 10^9/L$.

D - dugotrajna nelagoda (>168 sati) s trajnom posljedicom ili ozljedom kao npr. neuspješna profilaksa atrijske fibrilacije; venska tromboembolija; smanjeni učinak klopidogeta; nuspojave uzrokovane povećanom bioraspoloživošću fenitoina; INR $> 6,0$; neutropenija $0,5-1,0 \times 10^9/L$; leukopenija $1,0-2,0 \times 10^9/L$; trombocitopenija $25-50 \times 10^9/L$; teški proljev.

E - mogućnost neuspjeha terapije i pojava mijelosupresije; prevencija relapsa karcinoma dojke; aritmija; neutropenija koja je manja od $0,5 \times 10^9/L$; leukopenija koja je manja od $1 \times 10^9/L$; trombocitopenija koja je manja od $25 \times 10^9/L$; po život opasne komplikacije od dijareje

F - smrt; aritmija; neočekivana mijelosupresija

Gdje se radi: KBD - KB Dubrava; KBCSM – KBC Sestre milosrdnice, Zagreb; KBCZg - KBC, Zagreb; KBM - KB Merkur; MFRI - Medicinski fakultet, Rijeka, KBCSt- KBC Split

HALMED – Agencija za lijekove i medicinske proizvode

/ - podatak nije opisan

Tablica 4. Prikaz molekularnih i citogenetskih biomarkera, njihov učinak te značenje pri odluci o uvođenju/isključivanju lijeka u/iz terapije

Biomarker	Lijek / lijekovi	Mutacija / mutacije	Udio navedene mutacije među mogućim mutacijama (%)	Interpretacija fenotipa	Preporuka	Gdje se radi	Izvor	HALMED	Napomena
ALK kinaza anaplastičnog limfoma, <i>anaplastic lymphoma kinase</i>	alectinib, crizotinib <i>alectinib, crizotinib</i> (ALK inhibitori za rak pluća nemalih stanica)	ALK/ML4, ALK/RANBP2, ALK/AT1C, ALK/TFG, ALK/NPM1, ALK/SQSTM1, ALK/KIF5B, ALK/CLTC, ALK/TPM4, ALK/MSN	NP	preuredbe ALK gena mogu eksprimirati onkogeni fuzijski protein → maligna transformacija	nužna detekcija navedenih mutacija kako bi se moglo odabrati jedan od ovih lijekova	KBCSt	112, 113	Da	
	ceritinib <i>ceritinib</i> (ALK inhibitor za rak pluća nemalih stanica kod bolesnika otpornih na crizotinib)	ALK/ML4, ALK/RANBP2, ALK/AT1C, ALK/TFG, ALK/NPM1, ALK/SQSTM1, ALK/KIF5B, ALK/CLTC, ALK/TPM4, ALK/MSN	NP	preuredbe ALK gena mogu eksprimirati onkogeni fuzijski proteina → maligna transformacija	nužna detekcija navedenih mutacija kako bi se moglo odabrati ovaj lijek	KBCSt	112, 113	Da	
BRAF	dabrafenib, vemurafenib <i>dabrafenib, vemurafenib</i> (B-raf inhibitori za melanom)	T1799A = Val600Glu [V600E]	80-90	stalna aktivacija Ser/Thr kinaze → maligna transformacija	nužna detekcija navedene mutacije kako bi se moglo odabrati jedan od ovih lijekova	KBCZg	112, 114	Da	
c-KIT	imatinib, regorafenib <i>imatinib, regorafenib</i> (c-KIT inhibitori za gastrointestinalni stromalni tumor)	prekomjerna ekspresija	85	↑ tirozin-kinazna aktivnost → maligna transformacija	nužna detekcija navedenog biomarkera kako bi se moglo odabrati jedan od ovih lijekova	KBD	112, 115	Da	
	imatinib <i>imatinib</i> (c-KIT inhibitor za agresivnu sistemsku mastocitozu)	A2447T = Asp816Val [D816V]	NP	uzrokuje nastajanje receptorske tirozin kinaze otporne na imatinib	nužna detekcija navedenog biomarkera kako bi se isključio ovaj lijek iz razmatranja terapije	KBD	112, 115	Da	
CCR5 kemokinski C-C motiv receptor 5, <i>C-C chemokine receptor type 5</i>	maraviroc <i>maraviroc</i> (HIV antivirotik)	wt/wt, wt/mut	~90	prisutstvo CCR5 omogućuje određenim podvrstama HIV-1 virusa vezanje za stanicu	nužna detekcija navedenog biomarkera kako bi se moglo odabrati ovaj lijek kod osoba koje su otporne na terapiju ostalim HIV antiviroticima	/	112, 115	Da	
CFTR transmembranski regulator provodljivosti cistične fibroze, <i>Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i>	ivacaftor <i>ivacaftor</i> (terapija za cističnu fibrozu)	Gly178Arg, Ser549Asn, Ser549Arg, Gly 551Ser, Gly551Asp, Ser1251Asn, Gly1244Glu, Ser1251Asn, Ser1255Pro, Gly1349Asp	<3	neprimjerena regulacija kanala	nužna detekcija navedenih mutacija kako bi se moglo odabrati ovaj lijek	KBCZg	112, 116	Da	
	lumacaftor + ivacaftor <i>lumacaftor + ivacaftor</i> (terapija za cističnu fibrozu)	ΔPhe508 [ΔF508]	85	nastajanje okrnjenog proteina → ne dolazi do stanične membrane	nužna detekcija navedenimutacije kako bi se mogla odabrati ova kombinacija lijekova	KBCZg, Klinika za dječje bolesti Zagreb	112	Da	
5. kromosom 5th chromosome	lenalidomid <i>lenalidomide</i> (citostatik za mijelodisplastični sindrom)	delecija duljeg kraka	nije primjenjivo	haploinsuficijencija → uzrokuje mijelodisplastični sindrom (MDS)	nužna detekcija delecije kako bi se moglo odabrati ovaj lijek	Klinika za dječje bolesti Zagreb	112	Da	citogenetska metoda

Biomarker	Lijek / lijekovi	Mutacija / mutacije	Udio navedene mutacije među mogućim mutacijama (%)	Interpretacija fenotipa	Preporuka	Gdje se radi	Izvor	HALMED	Napomena
ERBB2 ili HER2/Neu receptor 2 za humani epidermalni faktor rasta, human epidermal growth factor receptor 2	trastuzumab, pertuzumab, lapatinib <i>trastuzumab, pertuzumab, lapatinib</i> (monoklonska protutijela za karcinom dojke)	prekomjerna ekspresija	30	↑ tirozin-kinazna aktivnost → maligna transformacija	nužna detekcija navedenog biomarkera kako bi se moglo odabrati jedan od ovih lijekova	MFRI, KBCSt	112, 117, 118	Da	
		Gly309Ala, Asp769His, Asp769Tyr, Val777Leu, insPhe780, Val842Ile, Arg896Cys	2	↑ tirozin-kinazna aktivnost → maligna transformacija	nužna detekcija jedne od navedenih mutacija kako bi se moglo odabrati jedan od ovih lijekova	MFRI, KBCSt	112, 117, 118	Da	
KRAS	panitumumab, cetuximab <i>panitumumab, cetuximab</i> (monoklonska protutijela za kolorektalni karcinom)	-u mRNA: G34T/C/A (Gly12Cys/Arg/Ser), G35C/A/T (Gly12Ala/Asp/Val), G37C/T (Gly13Arg/Cys), G38A/T (Gly13Asp/Val), G175A (Ala59Thr), C176T (Ala59Val), C181A (Gln61Lys), A182T (Gln61Leu), A183T/C (Gln61His), A351C/T (Lys117Asn), G436C/A (Ala146Phe/Thr), C437T (Ala146Val)	40	↑ RAS GTPaze bez vezanja faktora rasta → maligna transformacija, osobe s ovim mutacijama su otporne na djelovanje ovih lijekova	nužna detekcija navedenih mutacija kako bi se isključili ovi lijekovi iz razmatranja terapije	KBCZg, MFRI	112, 119	Da	
Bcr-ABL1	busulfan <i>busulfan</i> (antineoplastik)	translokacija kromosoma 9 i 22 (Philadelphia kromosom)	nije primjenjivo	nastajanje fuzijskog gena Bcr-ABL1 → ↑ tirozin-kinazna aktivnost → maligna transformacija	biti na oprezu jer je lijek slabije djelotvoran kod osoba s kroničnom mijeloičnom leukemijom bez prisutne translokacije	KBD, KBM, KBCZg	112	Da	

5 RASPRAVA

Ovaj rad ima namjeru prikazati farmakogenetiku kao jednu od brzorastućih grana molekularne dijagnostike i njena načela približiti kliničkoj upotrebi.

Zamisao je da izvlačenje relevantnih podataka posluži kao podloga za izradu web aplikacije na hrvatskom jeziku koja bi kliničarima i drugom medicinskom osoblju, kao i javnosti omogućila jednostavniji pristup izabranim farmakogenetskim načelima personalizacije terapije.

Personalizirani pristup medicini ima veliki potencijal kako za samog bolesnika, tako i za bolnički tim. Farmakogenetika, a sve više i farmakogenomika jedna je od glavnih sastavnica personalizirane medicine jer omogućuje optimizaciju liječenja, odnosno individualizaciju terapije. Farmakogenetičkim i farmakogenomskim testiranjem potencijalno možemo odrediti najbolji lijek i doziranje kako bi se izbjegle potencijalno po život opasne nuspojave te korištenje lijekova kojima bi učinak mogao biti nedovoljan ili izostati.

Istraživanja klinički relevantnih farmakogena predvode CPIC i DPWG koji objavljuju svoja istraživanja na *PubMed* bazi podataka. Rezultati istraživanja su oblikovani tako da opisuju učinak genotipa, tj. teoretskog fenotipa na odabir i doziranje terapije, kliničku značajnost mogućeg rizika prema nuspojavama, smanjenom učinku lijeka i slično te navode razinu dokaza i snagu preporuke koje kliničaru mogu pružiti informaciju kolika je korist izvođenja farmakogenetskog testa za određeni lijek. Istraživanja na temu farmakogenomike objavljena na *PubMed*-u se objavljuju i u glavnoj bazi podataka vezanu za farmakogenomiku – PharmGKB. PharmGKB vrši sistematizaciju istraživanja u obliku smjernica kako bi informacije prikazane istraživanjima bile dostupnije i preglednije u interpretaciji, a ujedno sadrži i sažetke o genima koji imaju klinički značaj ili pokazuju potencijal u farmakogenetici. Sa stanovišta personalizirane medicine najproučavaniji farmakogeni su CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, UGT1A1, DPYD, SERT, dok su CFTR, AML1-ETO, Bcr-ABL1 najproučavaniji kao biomarkeri u molekularnoj dijagnostici.

5.1 Preporuke za korištenje farmakogenetskih načela

Preporuke za optimizaciju terapije lijekovima koji se metaboliziraju putem CYP2C9 i VKORC1

Najbolji primjer farmakogenetskih podataka koji se danas može klinički koristiti je genotipizacija CYP2C9 u kombinaciji s genotipizacijom podjedinice-1 K-vitamin ovisne

epoksid reduktaze [eng. *Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1* (VKORC1)]. Ta kombinacija farmakogenetskog testiranja, pokazala se kao najznačajnija pri procjeni doziranja antikoagulantne terapije acenokumarolom, fenprokumonom ili varfarinom (od kojih je varfarin jedini registrirani lijek u Hrvatskoj), dok je zasebna genotipizacija CYP2C9 gena značajna pri doziranju fenitoina, a nešto manje celekoksiba i flurbiprofena.^{65, 66}

Najznačajniji polimorfizmi u bolesnika su *2 i *3 koji uzrokuju promjenu aminokiselina što posljedično uzrokuje gubitak funkcije samog enzima.

Zasebno određivanje genotipova za CYP2C9 i VKORC1 pri doziranju antikoagulantne terapije daje samo grubu procjenu.

Fenitoin^{62, 106}

Bolesnici kojima je indiciran antikonvulziv fenitoin mogu započeti terapiju s regularnom početnom dozom, ali dozu održavanja trebaju spustiti za 25% u slučaju IM, odnosno 50% u slučaju PM genotipa te odrediti koncentraciju lijeka u krvi nakon tjedan dana kako bi se doza mogla prilagoditi i izbjeći moguće nuspojave zbog neprimjerene koncentracije.

Kao dodatnu mjeru predostrožnosti bi trebalo napraviti genotipizaciju na prisutstvo haplotip HLA-B*15:02 zbog moguće pojave Stevens-Johnsonovog sindroma ili toksične epidermalne nekrolize.

HLA tipizacija zasad još nije dostupna u Hrvatskoj.

Acenokumarol i fenprokumon^{62, 64, 63, 59, 87, 88}

Bolesnici na terapiji acenokumarolom ili fenprokumonom koji su EM ili IM za CYP2C9 mogu započeti sa standardnom dozom, a ako im je genotipizacijom VKORC1 utvrđen heterozigotni ili homozigotni mutirani genotip, dozu trebaju naknadno prilagoditi vrijednostima PV-INR. Bolesnici koji su PM za CYP2C9 zasigurno će imati povećane koncentracije lijeka koje se očituju produženim djelovanjem i riziku za krvarenje neovisno o rezultatima genotipizacije VKORC1, zbog čega doziranje treba prilagoditi redovitom određivanju PV-INR-a.

Varfarin^{62, 67}

Doziranje varfarina najbolji je primjer u individualizaciji terapije farmakogenetičkim testiranjem. WarfarinDosing.org je internet stranica koja omogućuje optimizaciju doziranja varfarina kod bolesnika kombiniranjem antropoloških, medicinskih, farmakoterapijskih te farmakogenetskih podataka.

Slika 4: Sučelje upitnika za doziranje varfarinom.

Preporuke za optimizaciju terapije lijekovima koji se metaboliziraju putem CYP2C19

Genotipizacija CYP2C19 značajna je zbog velikog broja antidepresiva, benzodiazepina, inhibitora protonske crpke te klopidogrela koji se metaboliziraju ovim enzimom. Polimorfizmi koji se ispituju su: *2 kod kojeg dolazi do nepravilnog prekrajanja i gubitka funkcije enzima, *3 koji kodira za preuranjeni stop kodon što dovodi do gubitka funkcije te *17, karakteriziran pojačanom ekspresijom samog gena.

*Citalopram i escitalopram*⁵⁹

Bolesnicima kojima se uvodi SSRI antidepresiv citalopram ili escitalopram preporuča se genotipizacija kako bi se utvrdilo jesu li UEM fenotipa, uslijed čega bi kod takvih pacijenata regularnu početnu dozu trebalo naknadno povećati do 50% uz redovito određivanje koncentracije samog lijeka zbog mogućih smanjenih koncentracija i smanjenog učinka ili odabrati alternativni antidepresiv koji se ne metabolizira putem CYP2C19.

*Sertralin*⁵⁹

Terapija SSRI antidepresivom sertralinom kod bolesnika koji su UEM treba biti izmijenjena u slučaju izostanka odgovora, dok kod PM fenotipa terapiju treba započeti s 50% preporučene

doze, a zatim dozu prilagođavati s obzirom na odgovor i koncentraciju lijeka ili odabrati alternativni lijek koji se ne metabolizira enzimom CYP2C19.

Inhibitori protonske pumpe: esomeprazol, lansoprazol, omeprazol i pantoprazol⁵⁹

Utvrdjivanje prisutnosti UEM fenotipa preporučeno je kod bolesnika kojima se uvodi jedan od inhibitora protonske pumpe s ciljem povećanja doze za 50-100% u slučaju esomeprazola, 200% u slučaju lansoprazola, 100-200% u slučaju omeprazola ili 400% u slučaju pantoprazola.

Klopidogrel^{59, 72, 73}

Pri uvođenju terapije klopidogrelom kod kardiovaskularnih bolesnika naknadno testiranje može poslužiti kako bi klopidogrel eventualno bio isključen kao terapija zbog mogućeg smanjenog učinka kod bolesnika kojima je utvrđeno da su IM ili PM jer se prolijek nedovoljno metabolizira u aktivni metabolit.

Preporuke za optimizaciju terapije lijekovima koji se metaboliziraju putem CYP2D6

Genotipizacija CYP2D6 značajna je za optimizaciju terapije antidepresivima, antihipertenzivima, antiaritmicima, opioidnim i neopiodnim analgeticima, beta blokatorima, antiemeticima, antipsihoticima, a naročito pri liječenju raka dojke s tamoksifenom.

Najčešći polimorfizmi koji se određuju su *3 kod kojeg zbog delecije nukleotida dolazi do pomaka u okviru čitanja, *4 je supstitucija nukleotida kod koje dolazi do nepravilnog prekrajanja u mRNA prijepis te *5 kod kojega je došlo do kompletne delecije gena. Sve tri varijante dovode do gubitka funkcije enzima. Nasuprot ovih polimorfizama, duplikacija alela *1 i *2 dovodi do pojačanog stvaranja CYP2D6 što rezultira njegovom značajnom pojačanom metaboličkom aktivnosti.

Aripiprazol⁵⁹

Smanjenje doze antipsihotika aripiprazola za 33% preporučuje se bolesnicima s PM fenotipom.

Analgetici koji djeluju na opioidne receptore: kodein, oksikodon i tramadol^{62,76}

Bolesnicima kojima se uvodi jedan od navedenih analgetika, a genotipizacijom im je utvrđen UEM trebali bi odabrati alternativni lijek koji se ne metabolizira putem CYP2D6 budući povećano stvaranje aktivnih metabolita povisuje rizik za nastanak nuspojava.

Terapija tramadolom kod UEM genotipa ipak se može korigirati smanjenjem doze za 30%, dok u slučaju IM genotipa, terapija može započeti povećanom dozom lijeka. Terapija kodeinom i oksikodonom u bolesnika s IM genotipom može započeti preporučenom dozom. U slučaju IM genotipa, doza se može naknadno titrirati za sva tri navedena analgetika, a ako odgovor izostane, terapiju treba promijeniti. Bolesnicima kojima se utvrdi PM genotip ne treba uvoditi ove lijekove zbog njihove neučinkovitosti u bolesnika PM fenotipa.

Desipramin⁷⁷

Pri uvođenju terapije TCA desipraminom, bolesnicima kojima se utvrdi UEM genotip preporučuje se odabir alternativnog lijeka, a ako se kliničar ipak odluči za desipramin, treba započeti s većom dozom te pratiti koncentracije lijeka kako bi mogao prilagoditi doziranje. Bolesnicima koji su IM ili PM doziranje treba smanjiti za 25% (IM) ili 50% (PM) te također pratiti koncentracije desipramina kako bi se doza mogla naknadno prilagoditi.

Flekainid⁵⁹

Bolesnicima na terapiji flekainidom (antiaritmik) doziranje treba popratiti rezultatima EKG-a i koncentraciji lijeka. Bolesnicima koji su UEM može se razmotriti i odabir alternativnog lijeka, dok kod IM početnu dozu treba smanjiti za 25%. Bolesnici koji su PM trebaju smanjiti dozu za 50%.

Propafenon⁶²

Kao i u slučaju flekainida, doziranje propafenona (alfa i beta blokator) treba popratiti rezultatima EKG-a i koncentraciji lijeka te se u slučaju UEM genotipa može razmotriti odabir alternativnog lijeka. Prilagodba doziranja vrši se kod bolesnika koji su PM genotip smanjavanjem doze za 70%.

Antipsihotici: haloperidol i zuklopentiksol^{62, 59}

Doziranje tipičnih antipsihotika haloperidola ili zuklopentiksola u slučaju UEM genotipa treba biti prilagođeno rezultatima koncentracije lijeka, dok u slučaju PM dozu treba smanjiti za 50%. Smanjenje doze za 25% se također vrši bolesnicima na zuklopentiksolu za koje se utvrdi da su IM. Za sva 3 genotipa može se razmotriti promjena lijeka.

Metoprolol⁵⁹

Odluku o uvođenju beta blokatora metoprolola, kliničar treba zaključiti rezultatima genotipizacije, ali i indikaciji. Bolesnicima koji su UEM, IM ili PM kod zatajenja srca treba

odabrati alternativni lijek, dok kod ostalih indikacija dozu treba prilagoditi na maksimalno 250% (UEM), 50% (IM), odnosno 25% (PM) početne doze ovisno o odgovoru na liječenje.

Nortriptilin^{62,59}

Terapiju tricikličkog antidepresiva nortriptilina kod UEM i PM genotipova treba promijeniti alternativnim lijekom ili prilagoditi povećanjem, odnosno smanjenjem početne doze za 60% u slučaju UEM, odnosno PM genotipa te praćenjem koncentracije nortriptilina i (10-hidroksi)-nortriptilina. Bolesnicima koji su IM početnu dozu treba smanjiti za 40% te naknadno prilagoditi dozu koncentraciji nortriptilina, (10-hidroksi)-nortriptilina te samom odgovoru na terapiju.

Paroksetin^{62,81}

Uvođenje terapije SSRI antidepresivom paroksetinom ne preporuča se bolesnicima koji su UEM ili PM. U slučaju da se kliničar ipak odluči na terapiju paroksetinom, doziranje za PM genotip vrši se smanjenjem doze za 50% te praćenjem koncentracije kako bi se lijek mogao naknadno titrirati.

Risperidon⁶²

Terapija atipičnim antipsihotikom risperidonom ne preporuča se bolesnicima kojima se utvrdi da nisu EM, a ako se kliničar ipak na to odluči, dozu treba prilagođavati ovisno o odgovoru bolesnika.

Tamoksifen⁶²

Bolesnicama na terapiji tamoksifenom (selektivni modulator estrogenskih receptora) kojima se utvrdi IM ili PM fenotip trebaju biti na oprezu od povećanog rizika za relaps karcinoma dojke te trebaju izbjegavati inhibitore CYP2D6 kako se transformacija tamoksifena u aktivne metabolite ne bi dodatno smanjila. Kliničar bi također trebao razmisliti o uvođenju inhibitora aromataze za bolesnice u menopauzi.

Venlafaksin⁶²

Odabir terapije venlafaksinom ne preporuča se kod osoba koje su IM ili PM genotipa, dok se i kod UEM genotipa može razmisliti o alternativnom lijeku. U slučaju da se kliničar odluči na izbor venlafaksina, treba pratiti koncentraciju venlafaksina i (O-)desmetil-venlafaksina uz odgovor na terapiju kako bi naknadno mogao prilagoditi doziranje koje u slučaju UEM može biti do 50% veće.

Preporuke za optimizaciju terapije tricikličkim antidepresivima koji se metaboliziraju putem CYP2C19 i CYP2D6: amitriptilin, doksepin, imipramin, klomipramin i trimipramin

^{62, 59, 70, 71}

Odabir i doziranje tricikličkim antidepresivima (amitriptilin, doksepin, imipramin, klomipramin i trimipramin) treba prilagoditi rezultatima genotipizacije CYP2C19 i CYP2D6. Ako se bolesniku utvrdi da je za jedan od ova dva enzima nosioc UEM fenotipa, treba odabrati alternativni antidepresiv koji se ne metabolizira ni s jednim od ovih enzima. Ako se kliničar svejedno odluči na jedan od ovih TCA, treba povećati početnu dozu i do 100% te pratiti koncentracije samog lijeka ili nordoksepina u slučaju doksepina te desimipramina u slučaju imipramina kako bi se doziranje moglo naknadno prilagoditi. Bolesnici koji su IM genotip za CYP2C19 mogu započeti terapiju s normalnom dozom u slučaju amitriptilina, dok u slučaju doksepina i trimipramina dozu treba smanjiti za 25%. Prilagodba doze TCA kod IM genotipa za CYP2D6 vrši se smanjavanjem doze za 20% u slučaju doksepina, 25% u slučaju amitriptilina i trimipramina ili 30% u slučaju imipramina uz eventualnu naknadnu titraciju ovisno o učinku. Bolesnicima koji su PM za CYP2D6 ili CYP2C19 preporučuje se odabir alternativne terapije, a ako se kliničar izričito odluči za jedan od nabrojanih TCA, doziranje se može regulirati smanjavanjem doze za 30% (CYP2C19) ili 70% (CYP2D6) u slučaju imipramina, 50% u slučaju amitriptilina, doksepina, klomipramina i trimipramina te praćenjem koncentracije lijeka, odnosno nordoksepina u slučaju doksepina ili desimipramina u slučaju imipramina. U slučaju da je bolesnik PM za oba gena, treba odabrati alternativni lijek ili strogo pratiti koncentraciju lijeka ili metabolita te učinak.

Preporuke za optimizaciju terapije irinotekanom zasnovano na genotipu UGT1A1

^{59, 82, 83}

Genotipizacija UGT1A1 značajna je za dijagnozu Gilbertova sindroma koji je karakteriziran neprimjerenom glukuronidacijom bilirubina što dovodi do žutice. Osim glukuronidacije bilirubina, UGT1A1 vrši glukuronidaciju ksenobiotika pa je u farmakogenetskom smislu značajna glukuronidacija irinotekana – citostatika koji se daje u raku kolona. S obzirom da je rak kolona 2. po učestalosti u RH, genotipizacijom bi se mogle smanjiti nuspojave u obliku teške dijareje koja može dovesti i do hospitalizacije te imunosupresije koja može uzrokovati neutropeniju. Bolesnici nosioci alela *28 imaju 7 ponavljanja TA dinukleotida nasuprot 6 ponavljanja koja se nalaze u divljem tipu. Ova varijanta uzrokuje smanjenu ekspresiju gena i smanjenu aktivnost enzima.

Genotipizacija se vrši kod bolesnika kojima je indicirana doza veća od 180 mg/m². Bolesnicima koji su IM ili PM treba pratiti koncentraciju lijeka te biti na oprezu od nuspojava, a u slučaju PM doza ne smije prelaziti 250 mg/m². U slučaju da koncentracija lijeka prijeđe vrijednost od 250 mg/m², dozu je potrebno smanjiti za 30% te se zatim može naknadno titrirati ovisno o broju neutrofilnih granulocita.

Preporuke za optimizaciju terapije azatioprinom zasnovano na genotipu TPMT^{59, 73, 85}

Azatioprin je imunosupresiv koji se metabolizira tiopurin S-metiltransferazom koja je kodirana TPMT genom. Određivanje genotipa za ovaj gen ima veliki klinički značaj kako bi se mogle izbjeći opasne nuspojave poput mijelosupresije koje mogu biti uzrokovane neprimjerenim doziranjem. Polimorfizmi *2 i *3 uzrokuju krivosmislene supstitucije koje se očituju gubitkom funkcije enzima.

Bolesnici kojima se utvrdi prisutstvo jednog od ovih polimorfizama preporuča se odabir alternativnog lijeka. U protivnom, dozu treba smanjiti za 50% u slučaju IM, odnosno 90% u slučaju PM genotipa. Doza se može naknadno titrirati uz veliki oprez i rezultate hematoloških nalaza kako bi se utvrdila funkcija koštane srži.

Probir na faktor V Leiden mutaciju pri uvođenju oralnih kontraceptiva baziranih na estrogenu^{59, 89}

Osim određivanja rizika za razvoj venske tromboembolije, genotipizacija faktora V ima značaj pri odluci o odabiru oralnih kontraceptiva baziranih na estrogenu. Faktor V Leiden je krivosmislena mutacija kod koje faktor V ima rezistenciju na razgradnju faktorom C, a samim time povećanu sklonost za hiperkoagulabilnost.

Žene koje imaju obiteljsku povijest bolesti za tromboembolijske bolesti trebaju odabrati alternativnu metodu kontracepcije ako su pozitivne na faktor V Leiden. U slučaju da je povijest bolesti negativna, a mutacija svejedno utvrđena, moguće je započeti s oralnim kontraceptivima baziranih na estrogenu uz izbjegavanje rizičnih faktora poput pušenja i povećane tjelesne mase koji mogu uzrokovati hiperkoagulabilna stanja.

Preporuke za optimizaciju terapije derivatima 5-fluoruracila: kapecitabin, tegafur i 5-FU, koji se metaboliziraju putem DPYD^{62, 67, 90, 91, 120}

Dihidropirimidin dehidrogenaza kodirana je DPYD genom koji ima veliki broj alelnih varijanti, od kojih neke nemaju jasno definiranu funkciju, zbog čega je doziranje zasnovano na rezultatima genotipizacije otežano. Alelne varijante koje uzrokuju gubitak funkcije enzima,

a u populaciji se pojavljaju vrlo malom frekvencijom su: *2 kod koje dolazi do supstitucije nukleotida i nepravilnog prekrajanja te *3 kod koje delecija nukleotida uzrokuje pomak u okviru čitanja. Alelne varijante *4, *5, *6 i *9A pojavljuju se puno većom frekvencijom, ali njihov učinak nije jasno definiran. CPIC smjernice upućuju da su ove alelne varijante uzrokom normalnog enzima, odnosno brzih metabolizatora.

Odabir kapecitabina koji je prolijeak fluorouracila ovisi o genotipu DPYD-a. Bolesnicima kojima se utvrdi prisutstvo samo jednog nefunkcionalnog alela ne treba uvoditi kapecitabin kao terapiju. U slučaju IM genotipa, kliničar se može odlučiti na uvođenje terapije kapecitabinom, odnosno fluorouracilom uz smanjavanje doze za 50% kako bi se izbjegle potencijalno letalne nuspojave. Dozu se može naknadno titrirati ovisno o učinku i nuspojavama. Smjernice za kapecitabin i fluorouracila se također može primijeniti za doziranje tegafura u kombinaciji s uracilom.

Preporuke za optimizaciju terapije takrolimusom zasnovano na genotipu

CYP3A5^{59, 92, 93}

Prilagodba doziranja imunosupresiva takrolimusa vrši se određivanjem genotipa za CYP3A5, tj. prisutnošću alela *1 i *2. Naime, *3 je alelna varijanta kod koje supstitucija A6986G uzrokuje grešku u prekrajanju za RNA prijepis zbog čega je smanjena funkcija nastalog enzima, ali je u populaciji najčešća - zbog čega je uobičajeno doziranje takrolimusa osmišljeno za PM genotip. Ostale varijante uzrokuju nastajanje enzima veće aktivnosti pa tako alel *1 ima normalnu funkciju, dok *2 ima djelomično smanjenu funkciju zbog supstitucije C27289A što uzrokuje zamjenu aminokiseline u proteinu.

Bolesnicima kojima se utvrdi da su EM ili IM treba povećati dozu za 50-100%, ali pripaziti da ta doza ne prelazi 0,3 mg po kg tjelesne mase u danu. Uz to se preporučuje praćenje koncentracije lijeka i učinka kako bi se dozu moglo naknadno prilagoditi.

Preporuke za optimizaciju terapije simvastatinom zasnovano na genotipu

SLCO1B1^{97,98,99}

Određivanje prisutnosti ili odsutnosti divljih haplotipova *1A i *1B u genu SLCO1B1 koji kodira organski anionski transportni polipeptid korisno je pri odabiru terapije simvastatinom. SLCO1B1 sadrži nekoliko haplotipova. Haplotipovi *5 i *15 karakterizirani su supstitucijama u nukleotidnom slijedu što uzrokuje oslabljenu funkciju organskog anionskog transportnog polipeptida kojeg koristi simvastatin.

Bolesnicima kojima se utvrdi izostanak barem jednog divljeg haplotipa preporučuje se odabir alternativnog lijeka (pravastatin ili rosuvastatin) kako bi se izbjegao rizik za miopatiju koja je moguća nuspojava ovog lijeka. Kliničar koji se unatoč ovim preporukama odluči na terapiju simvastatinom treba smanjiti dozu lijeka i redovito pratiti aktivnost enzima kreatin kinaze u serumu bolesnika.

Preporuke za optimizaciju terapije antidepresivima i antipsihoticima zasnovano na genotipu SLC6A4^{59, 100}

Genotipizacija gena SLC6A4 (poznat i kao HTTLPR) koji kodira SERT nema kliničku primjenu u doziranju lijeka, ali može predvidjeti odgovor bolesnika na terapiju SSRI antidepresivima. Iako SLC6A4 ima velik broj alelnih varijanti, najčešća genotipizacija vrši se određivanjem prisutstva dugačkog (L) i kratkog (S) alela. Ove varijante karakterizirane su prisutstvom ili izostankom 43-44 nukleotida u genu.

Bolesnici koji imaju prisutan L alel imaju bolji odgovor na terapiju SSRI antidepresivima od bolesnika koji imaju samo S alele, ali samo u slučajevima kad se događaj koji je uzrokovao depresiju dogodio u zadnjih 6 mjeseci. Nasuprot tome, bolesnici koji imaju prisutan L alel imaju povećan rizik za seksualnu disfunkciju kod terapije SSRI antidepresivima, ali i generalnih nuspojava kod terapije antipsihotikom kvetiapiinom, olanzapiinom ili risperidonom.

Procjena učinka kombinirane terapija peginterferonom i ribavirinom bazirano na genotipu IFNL3¹⁰⁷

Određivanje genotipa za IFNL3 (poznat i kao IL28B) koji kodira IFN- λ 3 od značaja je za procjenu funkcije interferona i antiviralnog potencijala bolesnika. IFN- λ 3 je bitan za antiviralan učinak, a prisutnost rs12979860 u genu IFNL3 uzrokuje stvaranje slabije funkcionalnog interferona.

Prisutnost ili odsutnost ove mutacije omogućuje kliničaru procjenu odgovora na terapiju peginterferonom alfa-2A, peginterferonom alfa-2B i ribavirinom (RBV) kod infekcije hepatitis C virusom. U slučaju smanjene funkcije, kliničar se treba odlučiti na dualnu terapiju PEG-IFN- α /RBV ili čak trostruku terapiju koja uz IFN- α /RBV sadrži i direktno djelujuće antivirusne lijekove. Genotipizacija IFNL3 zasad nije dostupna u Hrvatskoj.

Probir na pojedine haplotipove HLA-B

Određivanje određenih haplotipova HLA-B gena značajno je u predviđanju nuspojava koje se mogu pojaviti kod bolesnika koji su na terapiji abakavirom kod infekcije HIV-om,

alopurinolom kod gihta te fenitoinom ili karbamazepinom u slučaju epilepsije i sličnih stanja. HLA tipizacija zasad nije dostupna u Hrvatskoj.

Abakavir^{59,103}

Određivanjem prisutnosti ili odsutnosti HLA-B*57:01 omogućuje izuzimanje ili odabir terapije abakavirom. Bolesnici s HLA-B*57:01 haplotipom imaju povećani rizik za razvoj reakcija preosjetljivosti.

Fenitoin i karbamazepin^{105, 106}

Slične nuspojave kao kod abakavira mogu se dogoditi kod bolesnika s HLA-B*15:02 na terapiji antikonvulzivom fenitoinom ili karbamazepinom. Ipak, ako im se utvrdi HLA-B*15:02, a na terapiji su bili već 3 mjeseca bez nuspojava, nastavak terapije je prihvatljiv uz povećani oprez.

Alopurinol^{103, 104}

Ispitivanje prisutnosti HLA-B*58:01 prije terapije alopurinolom kod bolesnika s povećanom koncentracijom mokraćne kiseline značajno je kako bi se alopurinol mogao isključiti u slučaju prisutnosti ovog haplotipa zbog mogućnosti nastanka teških kožnih nuspojava.

Preporuke za optimizaciju terapije razburikazom zasnovano na genotipu G6PD¹⁰⁹

Odabir terapije rekombinantim enzimom razburikazom kod bolesnika s povećanom koncentracijom mokraćne kiseline ovisi o aktivnosti enzima glukoza-6-fosfat dehidrogenaze. Ovaj enzim stvara NADPH koji je značajan u eliminaciji reaktivnih skupina i spojeva u organizmu kao što je vodikov peroksid. Enzim je kodiran G6PD genom koji ima veliki broj haplotipova koji variraju s geografskim područjem.

Utvrđivanje prisutnosti divljeg haplotipa *1B bitno je za odluku o započinjanju terapije razburikazom budući da ovaj rekombinantni enzim uzrokuje stvaranje vodikova peroksida, što kod osoba s mutiranim haplotipovima pospješuje nastanak hemolitičke anemije. S obzirom da je ovaj gen lociran na X kromosomu, bolesnici s divljim haplotipom će imati normalnu funkciju, dok će kod mutiranog haplotipa enzim biti nefunkcionalan te im je razburikaza u tom slučaju kontraindicirana. Bolesnice zbog mozaicizma mogu imati varijabilnu aktivnost enzima u prisutnosti mutiranog i divljeg alela, zbog čega bi kliničar trebao dovesti odluku na temelju rezultata o aktivnosti glukoza-6-fosfat dehidrogenaze.

Genotipizacija ovog gena nije dostupna u Hrvatskoj.

5.2 Biomarkeri čija je detekcija ključna pri odluci o uvođenju ili isključivanju lijeka za određena patološka stanja

Osim gena koji se uvrstavaju u područje farmakogenetike, određeni biomarkeri koji se određuju molekularnom dijagnostikom omogućuju kliničaru izbor ili izuzimanje lijeka u liječenju stanja koja su vrlo često malignog karaktera.

Probir na c-KIT mutaciju pri odluci o uvođenju imatiniba^{112, 115}

Dokazivanje prisutnosti supstitucije *A2447T*, koja uzrokuje zamjenu aminokiselina *Asp816Val*, poznatije i kao mutacija *D816V* u genu za c-KIT kod agresivne sistemske mastocitoze značajno je kako bi se izuzela terapija imatinibom. Mutacija *D816V* uzrokuje nastajanje tirozin kinaze koja ne može biti inhibirana imatinibom zbog čega treba odabrati alternativni inhibitor koji djeluje i na ovu mutaciju.

Probir na CFTR mutaciju pri odluci o uvođenju ivakaftora^{112, 116}

Mutacije CFTR gena uzrokuju različite promjene u funkciji transmembranskog regulatora provodljivosti cistične fibroze koje uzrokuju cističnu fibrozu. Detekcija jedne od navedenih mutacija: *Gly178Arg*, *Ser549Asn*, *Ser549Arg*, *Gly551Ser*, *Gly551Asp*, *Ser1251Asn*, *Gly1244Glu*, *Ser1251Asn*, *Ser1255Pro* i/ili *Gly1349Asp*, bitna je kako bi se mogao uvesti ivakaftor za tretman cistične fibroze.

Bolesnicima kojima se detektira delecija *Phe508* može se uvesti terapija lumakaftorom u kombinaciji s ivakaftorom.

Probir na Bcr-ABL1 translokaciju pri odluci o uvođenju busulfana¹¹²

Bcr-ABL1 fuzijski je gen koji nastaje translokacijom kromosoma 9 i 22 (poznat i kao *Philadelphia* kromosom) te uzrokuje nastajanje stalno aktivne tirozin kinaze. Detekcijom translokacije ili fuzijskog gena može se sigurnije ući u terapiju antineoplastikom busulfanom zbog jačeg učinka na tirozin kinazu nastalu ovim fuzijskim genom.

5.3 Potencijal, problemi i budućnost farmakogenetike

Prema dostupnim podacima iz prikupljenih studija evidentan je potencijal farmakogenetike u prilagodbi doziranja terapije zbog čega su neke tvrtke već započele i s razvojem *point of care testing* analiza za pojedine gene, gdje je dovoljan samo bris bolesnikove bukalne sluznice.



Slika 5: Analizator za CYP2C19 gen^a

S druge strane, postoje i problemi koji usporavaju uvrštavanje farmakogenetike i farmakogenomike u rutinsku kliničku uporabu. Prvenstveni razlog su farmakogenetske smjernice koje zasad nisu dovoljno optimizirane, tj. ne pokazuju dovoljnu ekonomsku korist ili ne sadrže dovoljnu razinu dokaza. S obzirom da su cijene testova molekularne dijagnostike i do 100 puta veće od općih biokemijskih pretraga, teško je očekivati da će široki probir na teret zdravstvenog sustava moći biti ostvaren u bližoj budućnosti. Ostali problemi uključuju potrebu za obrazovanjem zdravstvenog osoblja kako bi ono moglo interpretirati rezultate. Problem je i vrijeme za izvedbu samog testa te standardizacija rezultata. Trenutno vrijeme koje je potrebno za izdavanje nalaza [eng. *turnaround time* (TAT)] nekog genetičkog testa jest ponekad i do mjesec dana, zbog čega bolesnicima s hitnim stanjima farmakogenetičko testiranje nije od koristi. Osim toga, donedavno nije bilo standardizirano ni iskazivanje rezultata, zbog čega je rezultate farmakogenetskog testiranja bilo teško uspoređivati između različitih laboratorija. Tek je prošle godine CPIC ostvario konsenzus kako bi se prilikom izdavanja rezultata rabili ujednačeni pojmovi.¹²¹

S istraživačkog stanovišta, količina samih radova na temu farmakogenetike i farmakogenomike nema više toliki porast kao u razdoblju između 1998. i 2007. Razloge tome možemo naći u činjenici da se u tome se razdoblju vidio potencijal u svakom genu koji je imao poveznicu s farmakološki aktivnim tvarima. Ipak, nakon toga se utvrdilo da je broj klinički relevantnih gena ograničen, a da pojedinačni geni nisu za individualizaciju terapije presudni u onoj mjeri u kojoj se to u početku smatralo, a određivanje farmakogenetski optimalne terapije inicijalno je skuplje od liječenja nuspojava regularno indiciranog lijeka kada se optimizacija ne radi.

^a analizator *Spartan RX* tvrtke *Spartan*

Danas se većina farmakogenetičkih testiranja u Hrvatskoj izvode u KBC Zagreb i KBC Sestre milosrdnice, dok se u ostalim kliničkim bolnicama i kliničkim bolničkim centrima ono izvodi na molekularno-dijagnostičkoj razini kod onkoloških bolesnika čime se utvrđuje benefit terapije određenim ciljanim lijekovima.

U Hrvatskoj je problem i usporedba dobivenih rezultata sa referentnim DNA materijalom za našu populaciju i dok taj referentni materijal ne bude utvrđen, pojedine rezultate možemo uspoređivati jedino s rezultatima sličnih europskih populacija.

Treba spomenuti i da osim u optimiranju terapije, farmakogenetsko testiranje ima i značaj i za farmaceutsku industriju koja na osnovu farmakogenetskih probiranja skupina bolesnika sada može kvalitetnije odabrati ciljne molekule za potencijalne lijekove, uslijed čega postaje moguće preciznije utvrditi krajnji povoljan i nepovoljan učinak lijeka. Iako farmakogenetsko i farmakogenomsko testiranje povisuje cijenu otkrivanja i razvoja novih lijekova, uvođenjem ovih testova farmaceutska industrija potencijalno može i uštedjeti jer omogućava ranije predviđanje neuspjeha lijeka koji se istražuje.

5.4 Kritički osvrt na potencijalnu primjenu farmakogenetskih načela i njihova uvođenja u kliničku praksu

Unatoč činjenici da optimizacija terapije i uvođenja individualiziranog pristupa bolesniku pokazuje veliki potencijal i zasigurno ima budućnost, smatram da dobar dio smjernica nema dovoljnu korist za testiranje farmakogena. Primjer ovakvih farmakogenetskih smjernica je doziranje za antikoagulantnu terapiju acenokumarolom i fenprokumonom, gdje je bolesnicima kojima se utvrdi prisutstvo PM genotipa bilo za CYP2C9 ili VKORC1 i dalje potrebno redovito određivanje PV-INR, zbog čega smatram da bi kliničar koji se odluči na individualizaciju antikoagulantne terapije trebao pribjeći varfarinu. Korištenjem *WarfarinDosing* obrasca terapija varfarinom se može učinkovitije optimizirati. Osim varfarina, kliničar se jednostavno može odlučiti na jedan od antikoagulantnih lijekova nove generacije koji zahtijevaju rjeđe određivanje laboratorijskih parametara te imaju širi terapijski interval.

Nadalje, pri odabiru terapije antidepresivima koji koriste metabolički put preko CYP2C19 i/ili CYP2D6, smatram da genotipizacija jedino ima smisla kao isključna analiza zbog kompleksne interpretacije rezultata pri doziranju kod fenotipova različitih od EM. Štoviše, većina antidepresiva zahtjeva redovito titriranje doze ovisno o učinku, nuspojavama te koncentraciji u krvi unatoč rezultatima genotipizacije.

Nasuprot tome, smatram da je genotipizacija poželjna u slučajevima gdje lijek može izazvati teške i letalne nuspojave npr. irinotekan koji ima jasnije definirane smjernice za doziranje ovisno o genotipu UGT1.

Genotipizacija pripadajućih farmakogena za lijekove poput azatioprina, derivate 5-FU, analgetike s djelovanjem na opioidne receptore itd; bi trebala biti korištena prvenstveno kao isključna metoda, unatoč činjenici da se doza može prilagoditi ovisno o prisutstvu mutiranih alela.

Također smatram opravdanu genotipizaciju za lijekove kojima učinak može izostati, a koncentracija im se ne određuje radila se genotipizacija ili ne, npr. tamoksifen, klopidogetrel, inhibitori protonske pumpe, itd; a naročito u slučajevima skupih lijekova koji djeluju ovisno o prisutnošću određenih biomarkera.

Unatoč svemu, nedvojbeno je kako će farmakogenetika i farmakogenomika u budućnosti sve više ulaziti u rutinsku kliničku praksu te omogućiti razvoj ciljanih lijekova prema principima individualizacije terapije - lijek po mjeri svakog pojedinog bolesnika.

6 ZAKLJUČCI

1. Svrha farmakogenetike i farmakogenomike je u individualizaciji pristupa terapije, a doprinos ovog rada je u sustavnom prikazu aktualnih i relevantnih podataka oblikovanih u formi smjernica individualizacije terapije
2. Promjene u genima koje su od interesa farmakogenetike i farmakogenomike objavljuju se i ažuriraju u javno dostupnim bazama podataka, od kojih je PharmGKB od najvećeg značaja
3. Za mnoge je lijekove putem rezultata farmakogenetskog testiranja moguće procijeniti ili korigirati potrebnu dozu lijeka na osnovu predviđenog fenotipa metaboličkih enzima (brzi, srednje-brzi, spori te ultra-brzi metabolizatori)
4. Genotipizacija transportera za neurotransmitore omogućuje procjenu sklonosti prema određenim neurološkim i/ili psihijatrijskim stanjima te odgovora na terapiju za ta stanja
5. Genotipizacija receptora zasad nema toliki klinički značaj, ali će omogućiti procjenu učinka lijeka kod određenih mutacija
6. Detekcija određenih mutacija i biomarkera (najčešće kod malignih stanja) omogućuje odabir optimalne ili isključivanje neučinkovite terapije
7. Rezultati genotipizacije farmakogena ne smiju se automatski prevoditi u fenotip jer on ovisi i o vanjskim čimbenicima te epigenetičkom statusu bolesnika, zbog čega interpretaciju treba vršiti s oprezom
8. Analizom farmakogenomskih biomarkera u fazama razvoja lijeka moguće je doći do informacije o promjeni ekspresije gena koji kodiraju ciljne molekule lijeka ili neke nizvodne ciljne molekule u molekularnoj kaskadi, ali i skratiti potrebno vrijeme za dugoročne studije te ubrzati vrijeme za razvoj novih lijekova
9. Uvođenje farmakogenetičkih i farmakogenomskih testova ima smisla dok je ekonomski isplativo, tj. cijena testiranja i izrade terapije ne prelazi iznos koji bi nastao liječenjem nuspojava i manjkavom terapijom
10. Ovaj diplomski rad omogućit će polaznu osnovu za izradu web stranice/priručnika s ažurnim farmakogenetskim smjernicama

7 INDEKS PRIKAZANIH LIJEKOVA I GENA

A

abakavir, 45, 60
ABCB1, 43
ACE, 46
ACE inhibitori, 46
acenokumarol, 33, 41, 51
alectinib, 48
aliskiren, 43
alopurinol, 45, 60
amitriptilin, 34, 36, 56
aripiprazol, 36, 53
atazanavir, 40
atomoksetin, 36
azatioprin, 40, 57

B

Bcr-ABL1, 61
busulfan, 49, 61

C

celekoksib, 33
ceritinib, 48
cetuximab, 49
CFTR, 61
citalopram, 34, 52
c-KIT, 61
COMT, 46
crizotinib, 48
CYP2C19, 34, 52, 56
CYP2C9, 12, 33, 50
CYP2D6, 11, 36, 39, 50, 53, 56
CYP3A5, 42, 58

D

dabrafenib, 48
DAT1, 44
desipramin, 37, 54
doksepin, 34, 37, 56
DPYD, 41, 57
duloksetin, 37

E

escitalopram, 34, 43, 52
esomeprazol, 35, 53

F

faktor V, 57
Faktor V, 41
fenitoin, 33, 45, 60
Fenitoin, 51
fenprokumon, 51
fenprokumona, 41
flekainid, 37, 54
fluorouracil, 42
fluoruracil, 57
flupentiksol, 37
flurbiprofen, 33

fluvoksamin, 37

G

G6PD, 46, 60
glibenklamid, 33
gliklazid, 33
glimepirid, 33

H

haloperidol, 37, 54
hidralazin, 42
HLA-B, 45, 59
HTTLPR, 43

I

IFNL3, 45, 59
IL28, 45
imatinib, 48, 61
imipramin, 35, 38, 56
irinotekan, 40, 56
ivacaftor, 48
ivakaftor, 61
izoniazid, 14, 42
izosorbid dinitirat, 42

K

kapecitabin, 41, 57
karbamazepin, 45, 60
karvedilol, 36
kateholamini, 46
klomipramin, 34, 36, 56
klopidogrel, 34, 53
klozapin, 37
kodein, 37, 39, 53
kvetiapin, 44

L

lansoprazol, 35, 53
lapatinib, 49
lenalidomid, 48
lumacaftor, 48

M

maraviroc, 48
metoprolol, 38, 54
mirtazapin, 38
moklobemid, 35

N

NAT2, 42
nortriptilin, 38, 55

O

oksikodon, 32, 37, 38, 53
olanzapin, 38, 44

omeprazol, 35, 53
ondansetron, 44
oralni kontraceptivi, 41, 57

P

panitumumab, 49
pantoprazol, 35, 53
paroksetin, 38, 55
peginterferon, 45, 59
pertuzumab, 49
pirazinamid, 42
propafenon, 38, 54

R

rabeprazol, 35
razburikaza, 46, 60
regorafenib, 48
ribavirin, 45, 59
rifampicin, 42
rifampin, 42
risperidon, 39, 44, 55

S

SERT, 43, 50
sertralin, 35, 38, 39, 52
simvastatin, 43, 58
SLC6A3, 44
SLC6A4, 43, 59
SLCO1B1, 43, 58
SSRI antidepressivi, 43

T

takrolimus, 42, 58
tamoksifen, 39, 55
tegafur, 42, 57
tegafur kombinacija, 42
tolbutamid, 33
TPMT, 40, 57
tramadol, 39, 53
trastuzumab, 49
trimipramin, 35, 39, 56

U

UGT1A1, 40, 50, 56

V

varfarin, 33, 40, 50, 51
vemurafenib, 48
venlafaksin, 39, 55
VKORC1, 40, 50
vorikonazol, 36

Z

zukupentiksol, 39, 54

8 LITERATURA

- ¹ Nebert DW. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: why is this relevant to the clinical geneticist? Clin Genet; 1999; 56(4):247–258.
- ² Kalow W. Historical Aspects of Pharmacogenetics. U: Pharmacogenomics Second Edition. Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF, urednici Taylor & Francis Group; 2005; str. 1-11.
- ³ O'Brien SJ i sur. The promise of comparative genomics in mammals. Science; 1999; 15: 458–481.
- ⁴ Liječenje prilagođeno bolesniku, 2016., <http://www.roche.hr>, pristupljeno u listopadu 2016.
- ⁵ Ozdemir V, Lerer B. Pharmacogenomics and the Promise of Personalized Medicine. U: Pharmacogenomics Second Edition. Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF, urednici Taylor & Francis Group; 2005; str. 13-49.
- ⁶ Lazarou J i sur. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. JAMA; 1998; 279(15):1200–1205.
- ⁷ [No author listed]. Bulletin Board: Study finds overwhelming majority of American consumers and physicians back development of personalized medicine. Pharmacogenomics; 2003; 4(1):13.
- ⁸ Chou WH i sur. Extension of a pilot study: impact from the cytochrome P450 2D6 polymorphism on outcome and costs associated with severe mental illness. J Clin Psychopharmacol; 2000; 20:246-251.
- ⁹ Veenstra DL i sur. Assessing the cost-effectiveness of pharmacogenomics. AAPS PharmSci. 2000; 2(3):E29.
- ¹⁰ Berm EJJ i sur. Economic Evaluations of Pharmacogenetic and Pharmacogenomic Screening Tests: A Systematic Review. Second Update of the Literature. PloS One; 2016; 11:146-262.
- ¹¹ Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF. Pharmacogenomics Second Edition. Taylor & Francis Group; 2005; str. 40.
- ¹² Linkage disequilibrium and recombination, 2005., <http://bio.classes.ucsc.edu/bio107>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹³ Haplotype, 2016., <http://www.nature.com>, pristupljeno u kolovozu 2016.
- ¹⁴ Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF. Pharmacogenomics Second Edition. Taylor & Francis Group; 2005; str. 444.
- ¹⁵ Ethnicity, 2017., <https://en.oxforddictionaries.com>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹⁶ Ingelman MS. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. Trends Pharmacol Sci; 2004; 25: 193–200.
- ¹⁷ McLellan RA i sur. Frequent occurrence of CYP2D6 gene duplication in Saudi Arabians. Pharmacogenetics; 1997; 7: 187–191.
- ¹⁸ A Super Brief and Basic Explanation of Epigenetics for Total Beginners, 2013., <http://www.whatisepigenetics.com>, pristupljeno u travnju 2017.

-
- ¹⁹ Jenuwein T i Allis CD. Translating the Histone Code. *Science*; 2001; 293(5532):1074–80.
- ²⁰ Turner BM. Cellular memory and the histone code. *Cell*; 2002; 111(3):285–91.
- ²¹ Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF. *Pharmacogenomics Second Edition*. Taylor & Francis Group; 2005; str. 466.
- ²² Flanagan J, Petronis A. Pharmacoeugenetics: From Basic Epigenetics to Therapeutic Applications. U: *Pharmacogenomics Second Edition*. Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF, urednici, Taylor & Francis Group; 2005; str. 461-491.
- ²³ Patnala R i sur. Candidate gene association studies: a comprehensive guide to useful in silico tools. *BMC Genetics*; 2013; 14: 39.
- ²⁴ Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF. *Pharmacogenomics Second Edition*. Taylor & Francis Group; 2005; str. 571-572.
- ²⁵ Opći principi farmakologije, 2013., <http://perpetuum-lab.com.hr>, pristupljeno u listopadu 2016.
- ²⁶ Nishimura i sur. Tissue Distribution of mRNA Expression of Human Cytochrome P450 Isoforms Assessed by High-Sensitivity Real-Time Reverse Transcription PCR. *Yakugaku Zasshi*; 2003; 123:369–375.
- ²⁷ CYP2D6 gene, 2016., <https://ghr.nlm.nih.gov>, pristupljeno u listopadu 2016.
- ²⁸ *Pharmacogenomics Second Edition*. Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF, urednici, Taylor & Francis Group; 2005; str 51.
- ²⁹ CYP2D6, 2016., <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>, pristupljeno u listopadu 2016.
- ³⁰ Dalén i sur. 10-hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3, and 13 functional CYP2D6 genes*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*; 1998; 63:444–452.
- ³¹ Drug Metabolism, 2017., <http://www.msdmanuals.com>, pristupljeno u travnju 2017.
- ³² Park BK, Breckenridge AM. Clinical implications of enzyme induction and enzyme inhibition. *Clinical pharmacokinetics*; 1981; 6:1–24.
- ³³ Cytochrome P 450 Hepatic enzyme inhibitors and inducers, 2014., <http://www.preregpharm.co.uk>, pristupljeno u listopadu 2016.
- ³⁴ Bailey DG i sur. Grapefruit-medication interactions: forbidden fruit or avoidable consequences? *Canadian Medical Association Journal*; 2013; 185:309–316.
- ³⁵ Weber WW. Receptors. U: *Pharmacogenomics Second Edition*. Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF, urednici Taylor & Francis Group; 2005; str. 71-107.
- ³⁶ Lifton RP i sur. Mutations in the mineralocorticoid receptor gene cause autosomal dominant pseudohypoaldosteronism type I. *Nat Genet*; 1998; 19(3):279–281.
- ³⁷ Geller DS i sur. Activating mineralocorticoid receptor mutation in hypertension exacerbated by pregnancy. *Science*; 2000; 289:119–123.
-

-
- ³⁸ Smith EP i sur.. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med*; 1994; 331:1056–1061.
- ³⁹ Sudhir K i sur. Premature coronary artery disease associated with a disruptive mutation in the estrogen receptor gene in a man. *Circulation*, 1997; 96:3774–3777.
- ⁴⁰ Mahfoudi A i sur. Specific mutations in the estrogen receptor change the properties of antiestrogens to full agonists. *Proc Natl Acad Sci USA*; 1995; 92:4206–4210.
- ⁴¹ Montano MM i sur. Human estrogen receptor ligand activity inversion mutants: receptors that interpret antiestrogens as estrogens and estrogens as antiestrogens and discriminate among different antiestrogens. *Mol Endocrinol*; 1996; 10(3):230–242.
- ⁴² Hizawa N. Beta-2 adrenergic receptor genetic polymorphisms and asthma. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*; 2009; 34:631–643.
- ⁴³ Liu R i sur. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell*; 1996; 86: 367–377.
- ⁴⁴ Samson M i sur. Resistance to HIV-1 infection in Caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature*; 1996; 382:722–725.
- ⁴⁵ Marzolini C i sur. Pharmacogenetics of Drug Transporters. U: *Pharmacogenomics Second Edition*. Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF, urednici Taylor & Francis Group, 2005, str. 109-155.
- ⁴⁶ ABCB1, 2017., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ⁴⁷ Hu XZ i sur. Serotonin transporter promoter gain-of-function genotypes are linked to obsessive-compulsive disorder. *American Journal of Human Genetics*; 2006; 78:815–826.
- ⁴⁸ Fuke S i sur. The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. *The Pharmacogenomics Journal*; 2001; 1: 152–156.
- ⁴⁹ Ramoz N i sur. A Haplotype of the Norepinephrine Transporter (Net) Gene Slc6a2 is Associated with Clinical Response to Atomoxetine in Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). *Neuropsychopharmacology*; 2009; 34:2135–2142.
- ⁵⁰ B. Katzung: *Temeljna i klinička farmakologija*, 11. izdanje, McGraw Hill, New York, 2011.
- ⁵¹ Bumgarner R. Overview of DNA microarrays: types, applications, and their future. *Current Protocols in Molecular Biology*; 2013; 22.
- ⁵² DNA Microarray, 2017., <http://learn.genetics.utah.edu>, pristupljeno u travnju 2017.
- ⁵³ Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? *Archives of Disease in Childhood. Education and Practice Edition*; 2013; 98:236–238.
- ⁵⁴ Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories, 2006., <https://www.acmg.net>, pristupljeno u lipnju 2017.
- ⁵⁵ Good Laboratory Practices for Molecular Genetic Testing for Heritable Diseases and Conditions, 2009., <https://www.cdc.gov>, pristupljeno u lipnju 2017.
-

-
- ⁵⁶ Bioinformatics, 2016., <http://www.bioinformatics.org>, pristupljeno u kolovozu 2016.
- ⁵⁷ Whirl-Carillo M i sur. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*; 2012; 92:414–417.
- ⁵⁸ Caudle KE i sur. Incorporation of pharmacogenomics into routine clinical practice: the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline development process. *Curr Drug Metab*; 2014; 15:209–217.
- ⁵⁹ Swen JJ i sur. Pharmacogenetics: From Bench to Byte— An Update of Guidelines. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*; 2011; 89:662–673.
- ⁶⁰ What are all the rs numbers (rsids)?, 2017., <https://customer.care.23andme.com>, pristupljeno u veljači 2017.
- ⁶¹ DPWG: Dutch Pharmacogenetics Working Group, 2017., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ⁶² Hicks JK i sur. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*; 2013; 93:402–408.
- ⁶³ CYP2C9, 2014., <https://www.snpedia.com>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁶⁴ Annotation of Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline information for acenocoumarol and CYP2C9, 2011., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁶⁵ Annotation of U.S. Food and Drug Administration (FDA) label information for celecoxib and CYP2C9, 2013., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁶⁶ Annotation of U.S. Food and Drug Administration (FDA) label information for flurbiprofen and CYP2C9, 2013., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁶⁷ Warfarin Dosing, 2016., <http://www.warfarindosing.org/>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁶⁸ CYP2C19, 2013., <https://www.snpedia.com>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁶⁹ CYP2C19 allele nomenclature, 2015., <http://www.cypalleles.ki.se>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁷⁰ Hagymási K i sur. Update on the Pharmacogenomics of Proton Pump. *Pharmacogenomics*; 2011; 12:873–888.
- ⁷¹ Hicks J i sur. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline (CPIC) for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants: 2016 update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2017.
- ⁷² Scott SA i sur. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 update. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*; 2013; 94:317–323.
- ⁷³ Scott SA i sur. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450-2C19 (CYP2C19) genotype and clopidogrel therapy. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*; 2011; 90:328–332.
-

-
- ⁷⁴ Ingelman SM. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *The Pharmacogenomics Journal*; 2005; 5: 6–13.
- ⁷⁵ CYP2D6, 2015., <https://www.snpedia.com>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁷⁶ Annotation of Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline information for codeine and CYP2D6, 2011., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁷⁷ Annotation of Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline information for desipramine and CYP2D6, 2016., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁷⁸ Annotation of Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline information for fluvoxamine and CYP2D6, 2017., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ⁷⁹ Annotation of Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline information for mirtazapine and CYP2D6, 2011., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁸⁰ Annotation of Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline information for olanzapine and CYP2D6, 2011., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁸¹ Annotation of Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline information for paroxetine and CYP2D6, 2011., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁸² Gene: UGT1A1 (UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1), 2016., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁸³ Annotation of Professional Society (PRO) guideline information for irinotecan and UGT1A1, 2015., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁸⁴ Gammal RS i sur. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for UGT1A1 and Atazanavir Prescribing. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*; 2016; 99:363–369.
- ⁸⁵ Gene: TPMT (thiopurine S-methyltransferase), 2016., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁸⁶ Gene: VKORC1 (vitamin K epoxide reductase complex, subunit 1), <https://www.pharmgkb.org/>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁸⁷ Annotation of Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline information for acenocoumarol and VKORC1, 2011., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ⁸⁸ Annotation of Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline information for phenprocoumon and VKORC1, 2011., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ⁸⁹ Kujovich JL. Factor V Leiden thrombophilia. *Genetics in Medicine*; 2011; 13:1–16.
- ⁹⁰ Gene: DPYD (dihydropyrimidine dehydrogenase), 2016., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁹¹ McLeod HL i sur. Nomenclature for human DPYD alleles. *Pharmacogenetics*. 1998; 8: 455–460.
-

-
- ⁹² Birdwell KA i sur. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*; 2015; 98:19–24.
- ⁹³ van Schaik RHN i sur. CYP3A5 Variant Allele Frequencies in Dutch Caucasians. *Clin Chem*; 2002; 48.
- ⁹⁴ NAT2, 2016.; <https://www.snpedia.com>, pristupljeno u travnju 2017.
- ⁹⁵ Annotation of U.S. Food and Drug Administration (FDA) label information for isoniazid, pyrazinamide, rifampin and NAT2, 2013., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁹⁶ Annotation of European Medicines Agency (EMA) label information for aliskiren and ABCB1, 2014., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁹⁷ Gene: SLCO1B1 (solute carrier organic anion transporter family, member 1B1) <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ⁹⁸ Ramsey LB i sur. The clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for SLCO1B1 and simvastatin-induced myopathy: 2014 update. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2014; 96:423–428.
- ⁹⁹ Wilke RA i sur. Clinical Pharmacogenomics Implementation Consortium (CPIC). The clinical pharmacogenomics implementation consortium: CPIC guideline for SLCO1B1 and simvastatin-induced myopathy. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*; 2012; 92: 112–117.
- ¹⁰⁰ Haplotype SLC6A4 L allele-rs25531T, 2017., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹⁰¹ SLC6A3, 2016., <http://www.snpedia.com>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ¹⁰² <http://www.allelefreqencies.net>, pristupljeno u svibnju 2017.
- ¹⁰³ Annotation of U.S. Food and Drug Administration (FDA) label information for abacavir and HLA-B, 2013., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u prosincu 2016.
- ¹⁰⁴ Annotation of Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline information for allopurinol and HLA-B, 2015., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u svibnju 2017.
- ¹⁰⁵ Annotation of Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline information for carbamazepine and HLA-B, 2013., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹⁰⁶ Annotation of Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline information for phenytoin and CYP2C9, HLA-B, 2017., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹⁰⁷ Annotation of Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline information for peginterferon alfa-2a, peginterferon alfa-2b, ribavirin and IFNL3, 2016., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹⁰⁸ Barišić M i sur. Characterization of G6PD deficiency in southern Croatia: description of a new variant, G6PD Split. *J Hum Genet*; 2005; 50:547–549.
- ¹⁰⁹ Annotation of Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline information for rasburicase and G6PD, 2014., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹¹⁰ rs4680, 2017., <https://www.snpedia.com>, pristupljeno u travnju 2017.
-

-
- ¹¹¹ Rigat B i sur. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest*; 1990; 86:1343–1346.
- ¹¹² Selected genomic biomarkers in the context of US Food and Drug Administration (FDA)-approved drug labels, 2017., <http://www.uptodate.com>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹¹³ ALK Gene, 2017., <http://www.genecards.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹¹⁴ BRAF, 2015., <https://www.mycancergenome.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹¹⁵ Molecular Profiling of Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST), 2015., <https://www.mycancergenome.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹¹⁶ Annotation of Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline information for ivacaftor and CFTR, 2016., <https://www.pharmgkb.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹¹⁷ HER2 (ERBB2), 2015., <https://www.mycancergenome.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹¹⁸ Bose R i sur. Activating HER2 mutations in HER2 gene amplification negative breast cancer. *Cancer Discov*; 3:224–237.
- ¹¹⁹ Molecular Profiling of Colorectal Cancer, 2016., <https://www.mycancergenome.org>, pristupljeno u travnju 2017.
- ¹²⁰ CPIC® Guideline for Fluoropyrimidines and DPYD, 2014., <https://cpicpgx.org/>, pristupljeno u svibnju 2017.
- ¹²¹ Caudle KE i sur. Standardizing terms for clinical pharmacogenetic test results: consensus terms from the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC). *Genet Med*. 2017.