



## Središnja medicinska knjižnica

**Macolić Šarinić, Viola (2012) *Nuspojave lijekova supstrata metaboličkog enzima citokroma P450 CYP2C9 i transportnog P-glikoproteina*. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

<http://medlib.mef.hr/1612>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET

Viola Macolić Šarinić

**Nuspojave lijekova supstrata metaboličkog enzima  
citokroma P450 CYP2C9  
i transportnog P-glikoproteina**

**DISERTACIJA**

Zagreb, 2012.

Istraživanje na kojem se temelji ova disertacija provedeno je u Agenciji za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) i Kliničkom bolničkom centru Zagreb

Mentor: Doc. dr. sc. Nada Božina

Klinički bolnički centar Zagreb

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku

Klinička jedinica za farmakogenomiku i individualizaciju terapije

Kišpatićeva 12, 10 000 Zagreb

# ZAHVALA

---

Iznimno hvala mojoj mentorici gospođi docent dr.sc. Nadi Božini bez čijeg entuzijazma, bodrenja i hrabrenja ovaj rad ne bi nikada ugledao svjetlo dana, iako su ideje i razmišljanja o ovoj temi već godinama bile prisutne u mom radu!

Nikici Mirošević Skvrce mojoj suradnici i prijateljici koja me je potaknula i jedina imala vjeru da ću ovo istraživanje i rad sigurno završiti – i onda kada sam bila potpuno klonula duhom.

Svim mojim farmakovigilantima koji su vjerovali u mene – Darko, Selma, Marin, Armano, Adriana, Marina – i stvarali pozitivnu energiju i kad je bilo najteže!

Svim mojim ostalim suradnicima u HALMED-u koji su vjerovali u mene i pomagali kad bi bi zapelo, ostavljali me na miru kad su znali da sam u znanstvenoj zanesenosti!

Puno hvala Anamariji – Nini mojoj tajnici koja me uvijek razumije i ostaje do kraja, kad svi ostali već stvarno moraju ići!

I na kraju mojoj obitelji Marti, Luki i Martinu – koji me trpe ovakvu kakvu jesam, i opraštaju što sam tako malo doma!

# Sadržaj

---

<b>Popis upotrijebljenih kratica</b>	<b>7</b>
<b>1.UVOD</b>	<b>8</b>
<b>1.1.Farmakovigilancija</b>	<b>8</b>
<b>1.2. Praćenje nuspojava lijekova u Republici Hrvatskoj – Nacionalna baza         lijekova (VigiFlow)</b>	<b>16</b>
<b>1.3. Interakcije lijekova</b>	<b>17</b>
<b>1.4. Farmakogenetika – farmakogenomika</b>	<b>19</b>
1.4.1. Citokromi P450(CYP)	20
1.4.1.1. Citokrom P4502C9 (CYP2C9)	21
<b>1.5. Antikoagulansi</b>	<b>25</b>
1.5.1. Varfarin	25
1.5.2. Acenokumarol	28
1.5.3. Fenprokumon	28
<b>1.6. Antikonvulzivi</b>	<b>30</b>
1.6.1. Fenobarbiton	30
1.6.2. Fenitoin	30
1.6.3. Valproična kiselina	32
<b>1.7. Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAR)</b>	<b>34</b>
1.7.1. Celekoksib	34
1.7.2. Diklofenak	35
1.7.3. Ibuprofen	37
1.7.4. Naproksen	39
1.7.5. Piroksikam	39
1.7.6. Tenoksikam	40
<b>1.8. Blokatori receptora angiotenzina II</b>	<b>41</b>
1.8.1. Kandesartan	41
1.8.2. Irbesartan	42
1.8.3. Losartan	43
<b>1.9. Antidijabetici</b>	<b>45</b>
1.9.1. Tolbutamid	45
1.9.2. Klorpropamid	47
1.9.3. Glibenklamid (gliburid)	47

1.9.4. Gliklazid	48
1.9.5. Glipizid	49
1.9.6. Glimepirid	49
1.9.7. Nateglinid	51
<b>1.10. Ostali lijekovi</b>	<b>52</b>
1.10.1. Fluvastatin	52
1.10.2. Torasemid	53
<b>1.11. Transportni proteini</b>	<b>54</b>
1.11.1. ABCB1/P-glikoprotein, Pgp	55
<b>2. HIPOTEZA</b>	<b>59</b>
<b>3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b>	<b>60</b>
<b>4. ISPITANICI, METODOLOGIJA I PLAN ISTRAŽIVANJA</b>	<b>61</b>
4.1. Ispitanici	61
4.2. Metode	63
4.2.1. Nacionalna baza za nuspojave lijekova (VigiFlow)	63
4.2.2. Genotipizacija CYP2C9 i MDR1/ABCB1	64
4.3. Statistika	70
<b>5. REZULTATI</b>	<b>71</b>
<b>5.1. Rezultati analize Nacionalne baze nuspojave lijekova HALMED-a (2005.-2011.)</b>	<b>71</b>
5.1.1. Supstrati CYP2C9	78
5.1.1.1. Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAR)	82
5.1.1.2. Blokatori receptora angiotenzina II (SARTANI)	83
5.1.1.3. Oralni antidijabetici	84
5.1.1.4. Bakteriostatici	85
5.1.1.5. Ukupno lijekovi supstrati CYP2C9	86
5.1.2. Supstrati CYP2C9 i transportnog proteina Pgp	91
5.1.2.1. Diazepam	96
5.1.2.2. Varfarin	97
5.1.2.3. Fluvastatin	99
5.1.2.4. Antiepileptici	102
5.1.2.5. Benzodiazepini	103
5.1.3. Ukupno – supstrati CYP2C9 i supstrati CYP2C9 koji su ujedno i supstrati transportnog proteina Pgp	104
5.1.4. Supstrati transportnog proteina Pgp	108
5.1.4.1. Ciklosporin	111
5.1.4.2. Amlodipin	112

5.1.4.3. Statini (atorvastatin, simvastatin)	113
5.1.4.4. Antiepileptici (karbamazepin, lamotrigin)	114
<b>5.2. Rezultati farmakogenetičkih analiza</b>	<b>116</b>
5.2.1. Utjecaj polimorfizama CYP2C9 na razvoj nuspojava lijekova supstrata	117
5.2.2. Utjecaj polimorfizama ABCB1 G2677T/A i C3435T na razvoj nuspojava lijekova supstrata	119
5.2.3. Utjecaj polimorfizama CYP2C9 na razvoj nuspojava na terapiju varfarinom	123
5.2.4. Utjecaj polimorfizama ABCB1 G2677T/A i C3435T na razvoj nuspojava na terapiju varfarinom	125
5.2.5. Utjecaj polimorfizama CYP2C9 na razvoj nuspojava na terapiju nesteroidnim protuupalnim lijekovima	129
5.2.6. Utjecaj polimorfizama ABCB1 G2677T/A i C3435T na razvoj nuspojava na terapiju nesteroidnim protuupalnim lijekovima	131
5.2.7. Utjecaj polimorfizama CYP2C9 na razvoj nuspojava na terapiju fluvastatinom	135
5.2.8. Utjecaj polimorfizama ABCB1 G2677T/A i C3435T na razvoj nuspojava na terapiju fluvastatinom	137
5.2.9. Utjecaj polimorfizama CYP2C9 na razvoj nuspojava na terapiju antiepilepticima	140
5.2.10. Utjecaj polimorfizama ABCB1 G2677T/A i C3435T na razvoj nuspojava na terapiju antiepilepticima	142
<b>6. RASPRAVA</b>	<b>146</b>
<b>7. ZAKLJUČCI</b>	<b>155</b>
<b>8. SAŽETAK</b>	<b>158</b>
<b>9. SUMMARY</b>	<b>161</b>
<b>10. LITERATURA</b>	<b>165</b>
<b>11. ŽIVOTOPIS</b>	<b>193</b>
<b>12. BIBLIOGRAFIJA</b>	<b>195</b>
<b>13. PRILOZI</b>	<b>199</b>

## POPIS UPOTRIJEBLJENIH KRATCA

1. **HALMED** – Agencija za lijekove i medicinske proizvode Republike Hrvatske
2. **EMA** – „European Medicines Agency“ - Europska agencija za lijekove
3. **NSAR** - Nesteroidni protuupalni lijekovi
4. **VigiFlow** - Nacionalna baza lijekova - Praćenje nuspojava lijekova u Republici Hrvatskoj koju vodi HALMED (aplikacija Uppsala Monitoring Centra – kolaborativni centra za praćenje nuspojava Svjetske zdravstvene organizacije)
5. **SSRI** - Inhibitori povratnog unosa serotonina
6. **SNP** – „Single Nucleotide Polymorphism“
7. **HUGO** – „Human Genome Organization“
8. **G6PD** - glukoza-6-fosfat dehidrogenaze
9. **MedDRA** - Medicinski rječnik za regulatorne poslove koji je važeći rječnik za kodiranje nuspojava u Hrvatskoj i Europskoj uniji
10. **SOC** - Klasifikacija organskih sustava po MedDRA riječniku
11. **CYP2C9** - citokrom P450 podjedinica 2C9
12. **AUC** – ukupna površina ispod krivulje (farmakokinetički parametar)
13. **ADR** – „Adverse drug reaction“ – nuspojava lijeka
14. **SPC** – Sažetak opisa svojstva lijeka
15. **PIL** – Uputa koja se prilaže lijeku za pacijenta
16. **Wt** – „Wild typ“ – Divlji tip (aleli)
17. **Mt** – Mutirani tip alela



# 1. UVOD

---

## 1.1. Farmakovigilancija

Jedan od osnovnih uvjeta provođenja racionalne farmakoterapije je poznavanje nuspojava i interakcija lijekova. Svaki lijek, uz svoje korisne učinke, ima i one neželjene – štetne. Morbiditet uzrokovan ovim neželjenim učincima često predstavlja problem u dijagnostici jer oni mogu zahvatiti i uključiti bilo koji organ ili organski sustav te se često pogrešno tumače novim simptomima postojeće ili razvojem neke nove bolesti. Poznavanjem pojedinih neželjenih učinaka lijekova osigurava se pravodobno i ispravno djelovanje tijekom liječenja bolesnika, te sigurnija primjena lijekova u pojedinim grupama bolesnika s posebnim rizicima za razvoj neželjenih učinaka. Danas se u liječenju internističkih, ali i drugih bolesti, često istovremeno primjenjuje više lijekova, posebice ukoliko se radi o liječenju kroničnih i malignih bolesti, što dovodi do njihovih interakcija. Interakcije mogu biti pozitivne, kao što je pojačavanje antihipertenzivnog učinka kombinacije dvaju ili više antihipertenziva, ali i negativne, kao što je povišenje koncentracije lijeka u plazmi u područje toksičnih granica, snižavanje koncentracije lijeka u plazmi i/ili smanjenje učinka na mjestu djelovanja, što vodi u terapijsku nedjelotvornost [1].

Kao što je naprijed rečeno *svaki* lijek može izazvati nuspojavu, ali njegov **omjer koristi i rizika** mora biti prihvatljiv: jedan takav ilustrativni primjer je primjer nuspojave neutropenije ili trombocitopenije kod terapije zloćudnih bolesti citostaticima koja će biti prihvaćena, ali ta ista nuspojava biti će neprihvatljiva za analgetik kojima se liječi blaga do umjereni bol. Kada se radi u neprihvatljivom omjeru koristi i rizika, lijek ne može dobiti odobrenje za stavljanje lijeka u promet kojeg izdaje regulatorno tijelo pojedine države. Regulatorno tijelo u Republici Hrvatskoj koji ima nadzor nad lijekovima je Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED). U nekim slučajevima događa se da u trenutku stavljanja lijeka u promet nisu još poznate neke ozbiljne nuspojave čije je učestalost vrlo rijetka ili se pojavljuju samo u interakciji s nekim drugim lijekovima ili bolestima. Ako omjer koristi i rizika u tom slučaju prevagne na stranu rizika, lijek se tada mora povući s tržišta. Najčešće se u svakodnevnoj medicinskoj praksi ne povlače takvi drastični potezi već se na osnovu poznavanja nuspojave mijenjaju mjere opreza, doziranje, indikacije i kontraindikacije - na primjer, izostavljaju se pojedine skupine pacijenta za koje se lijek pokazao rizičan, odnosno za koje je omjer

koristi i rizika primjene (postao) negativan. Praćenje sigurnosnog profila lijeka traje tijekom cijelog života lijeka na tržištu i važno ga je ne samo poznavati već i aktivno u njemu sudjelovati kao zdravstveni radnik koji propisuje, izdaje ili primjenjuje lijek. Samo na taj način možemo biti sigurni da pacijent dobiva točno onaj lijek koji je za njega najdjelotvorniji i najsigurniji [2].

**Farmakovigilancija** (od *pharmakon* (grč.) = lijek i *vigilare* (lat.) = budno paziti, stržariti) jest skup aktivnosti vezanih uz *otkrivanje, procjenu, razumijevanje, prevenciju i postupanje* u slučaju nuspojava lijekova kao i novih saznanja o škodljivosti primjene lijekova. Njezin cilj je uočavanje potencijalnih opasnosti primjene lijeka na temelju čega se procjenjuje *omjer rizika i koristi* njegove primjene, pružanje najbolje moguće informacije zdravstvenim radnicima i pacijentima te promicanje sigurne uporabe lijeka. **Nuspojava** lijeka jest svaka štetna i neželjena reakcija na lijek. **Neočekivana nuspojava** jest svaka nuspojava čija priroda, težina ili ishod nisu u skladu s navedenim u odobrenom sažetku opisa svojstava lijeka, odnosno u uputi za ispitivača za lijekove koji su u kliničkim ispitivanjima. **Ozbiljna nuspojava** jest svaka nuspojava koji uključuje sljedeće: smrt osobe, po život opasno stanje, potrebu za bolničkim liječenjem ili produljenje već postojećega bolničkog liječenja, trajni ili teški invaliditet ili nesposobnost, prirođenu anomaliju/manu od rođenja i ostala medicinski značajna stanja [2,3].

Morbiditet i mortalitet uzrokovani nuspojavama lijekova visoki su, i procjenjuje se da se nuspojave lijekova pojavljuju u 10 do 20% ambulantnih bolesnika. Procjene govore i da su nuspojave treća najučestalija „bolest“ u razvijenom svijetu - odmah nakon kardiovaskularnih i onkoloških [4].

Između 2,5 do čak 10% ukupnog broja hospitalizacija uzrokovane su nuspojavama, a učestalost smrtnih ishoda nuspojava iznosi oko 0,1%. Iz tog je razloga, problem nuspojava i farmakoekonomski problem, te se procjenjuje da razvijene zemlje čak 20% svojeg bolničkog proračuna troše na liječenje stanja uzrokovanih nuspojavama lijekova [5].

Bolesnik tijekom hospitalizacije prosječno istovremeno uzima 5 do 10 lijekova. Što je bolest teža, više se lijekova daje, a s brojem uzimanih lijekova eksponencijalno raste mogućnost nastanka nuspojava. U bolesnika koji uzimaju manje od 6 lijekova istovremeno, u 5% slučajeva postoji vjerojatnost da će se javiti nuspojava, dok u bolesnika koji uzimaju više od 15 različitih lijekova dnevno, ta vjerojatnost raste i iznad 40% [1].

Već tijekom pretkliničkih ispitivanja moguće je pretpostaviti određeni profil nuspojava koje bi lijek mogao izazvati na temelju strukture same molekule aktivne tvari, a tijekom svih faza kliničkih ispitivanjima (I do III) do davanja odobrenja za stavljanje gotovog lijeka u promet nuspojave se cijelo vrijeme aktivno prate. Na temelju dobivenih podataka govori se o profilu i o učestalosti pojedinih nuspojava lijeka, a također se mogu uočiti i potencijalne nuspojave koje bi se mogle pojaviti u određenim skupinama pacijenata, a koje nisu bili uključene u klinička ispitivanja. Prilikom davanja odobrenja za stavljanje lijeka u promet ocjenjuje odnos koristi i rizika primjene lijeka u indikacijama za koje se traži odobrenje. Kada se potvrdi da korist primjene lijeka nadmašuje njegov rizik lijek se stavlja na tržište. Ovime praćenje nuspojava ne završava već se nastavlja u obliku spontanog praćenja nuspojava i putem neintervencijskih postmarketinških ispitivanja. U sustavu spontanog praćenja nuspojava zdravstveni radnici imaju neizmjenjivo važnu ulogu na način da prijavljuju **sve sumnje** na nuspojave lijekova koje zapaze. Samo prijavljivanjem svih sumnji na nuspojave može se ostvariti i sigurna primjena lijekova jer se mnoge nuspojave nisu mogle otkriti u fazama kliničkih ispitivanja. U svakodnevnom životu i davanja lijekova mogu se otkriti interakcije među lijekovima koji se istovremeno daju a koje mogu dovest do nuspojava.

U Republici Hrvatskoj prijavljivanje nuspojava jest zakonska obveza svih zdravstvenih radnika (regulirano Zakonom o lijekovima [6-8] i Pravilnikom o farmakovigilanciji [9]). Ako postoji **sumnja** na nuspojavu lijeka ona se mora prijaviti Agenciji za lijekove i medicinske proizvode – HALMED-u, putem obrazaca koji su dostupni na Internetskoj stranici Agencije ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)) ili elektronskim putem preko iste stranice. Uz nuspojave lijekova na isti način trebaju se prijaviti i sumnje na medikacijske pogreške koje su posljedično dovele do neželjenog štetnog učinka lijeka, kao i svaki slučaj predoziranja, ovisnosti i zloupotrebe lijekova te sumnju na krivotvoreni lijek zbog izostanka terapije ili razvijanja neželjenih štetnih učinaka. Od jeseni 2009. godine u Republici Hrvatskoj pacijenti ili korisnici lijekova mogu izravno prijaviti sumnju na nuspojavu Agenciji putem posebnog obrasca koji je namijenjen pacijentima. Ovo je dodatni izvor za sigurnosnu procjenu lijekova u kojem bolesnici mogu opisati simptome koje su iskusili uzimajući neki lijek, što je posebno značajno u lijekova koji se koriste u samoliječenju. Prijava nuspojava od strane pacijenata ne znači da su zdravstveni radnici na ovaj način oslobođeni od prijavljivanja nuspojava (ono ostaje njihova zakonska obveza, dok je to za pacijente samo dodatna mogućnost!). Nuspojave prijavljene od pacijenta vode se zasebno kao medicinski ne potvrđene prijave i komplementarne su prijavama zdrav-

stvenih radnika koji se vode kao medicinski potvrđene, ali niti u jednom slučaju to ne znači da su one same po sebi dovoljne!

Nakon što se utvrdi da je određen simptom stvarno posljedica uzimanja nekog lijeka nuspojava se kategorizira prema **mehanizmu nastanka**: nuspojave lijekova se najčešće dijele se na dvije osnovne skupine (A i B). Iz nuspojava tipa A derivirane još 4 skupine (C-F) [1,2].

Nuspojave **tipa A** pojavljuju se kao posljedica farmakološkog učinka primijenjenog lijeka. Karakteristika ovih nuspojava jest da su one relativno česte, tj. da se pojavljuju u oko 1% bolesnika koji uzimaju određeni lijek. One su predvidive i u većini slučajeva ovisne o dozi, tj. mogu se povući ili smanjiti svoj intenzitet ukoliko se smanji doza primijenjenog lijeka. Imaju relativno nizak mortalitet, a u ovaj tip nuspojava spadaju i one koji nestaju nakon nekog vremena adaptacije (npr. glavobolja kao nuspojava liječenja nitratima). Nuspojave tipa A čine više od 70% svih zabilježenih nuspojava, a mogu se podijeliti na one primarnog i sekundarnog farmakološkog učinka lijeka. Nuspojavama primarnog farmakološkog učinka smatraju se simptomi koji su zapravo pojačani primarni učinci lijeka kao što su: bradikardija – beta blokatori, hipoglikemija – antidijabetici, uralna hipotenzija – diuretici, krvarenje – oralni antikoagulansi itd. Nuspojave sekundarnog farmakološkog učinka su one koje se pojavljuju kao posljedica farmakološkog mehanizma djelovanja lijeka, ali je to djelovanje nepovezano s njegovim osnovnim djelovanjem zbog kojeg je lijek bio primijenjen. Primjeri nuspojava sekundarnog farmakološkog učinka jesu: suha usta – triciklički antidepressivi, konstipacija – opijatni analgetici, pretjerana sedacija – antihistaminici prve generacije, crvenilo lica – kalcijevi antagonisti itd. Nuspojave koje nastaju kao posljedica farmakokinetičkih i farmakodinamskih interakcija spadaju u nuspojave tipa A, te se liječenje ovih nuspojava provodi podešavanjem doze lijeka ili prekidom davanja pojedinog lijeka koji ulazi u interakciju s drugim. Poznavanje ovog tipa nuspojava omogućuje obraćanje pozornosti na posebne skupine bolesnika kao što su stariji bolesnici ili bolesnici s renalnom insuficijencijom kod kojih neprilagođivanje doze može dovesti do visokih koncentracija lijeka u plazmi što onda izaziva i ovaj tip nuspojava (ovisnost o dozi!). Također se na temelju poznavanja ovih nuspojava mogu odrediti kontraindikacije i posebne mjere opreza za primjenu pojedinog lijeka, a njihovim poštivanjem u terapiji pojedinog bolesnika sprječava se nastanak nuspojava ovog tipa. Važna karakteristika nuspojava tipa A jest mogućnost preveniranja!

Nuspojave **tipa B** neovisne su o osnovnom farmakološkom učinku. One su neočekivane za pojedinog bolesnika, nisu povezane s dozom lijeka (i najmanja doza može uzrokovati

nuspojavu), niske su učestalosti (dogadaju se u manje od 1% bolesnika koji uzimaju lijek), ali visokog mortaliteta! U više od 99% slučajeva dogadaju se za vrijeme davanja lijeka, a mehanizam nastanka ovih nuspojava u nekim slučajevima nije uvijek u potpunosti jasan. Liječenje, za razliku od liječenja nuspojava tipa A, jest uvijek prekid davanja lijeka i po potrebi davanje antialergijske terapije. Mehanizam i vrste ovih reakcija jesu: imunoalergijske reakcije, pseudoalergijske reakcije (anafilaktoidne reakcije) intolerancija i idiosinkrazija (neimunološke – nepredvidive reakcije). 25% svih zabilježenih nuspojava spada u tip B i većina ovih nuspojava javlja se u žena (oko 80%)! Ove nuspojave se, za razliku od nuspojava tipa A, ne mogu prevenirati, osim u slučajevima kada postoji pozitivna anamneza preosjetljivosti na pojedini lijek ili na lijek na koji se može razviti unakrsna preosjetljivost. Klinička slika anafilaksije, osipa, urtikarije ili angioedema može biti uzrokovana pravom alergijskom kao i pseudoalergijskom reakcijom. Krvne diskrazije i hepatitis mogu uz navedene uzroke biti i posljedica idiosinkrazije, dok je npr. tinitus kao nuspojava posljedica intolerancije lijeka.

Nuspojave **tipa C** su nuspojave koje nastaju nakon dugotrajne terapije. Ova nuspojava nije povezana samo s dozom već i s vremenom uzimanja. Takve nuspojave se najčešće ne mogu otkriti za vrijeme kliničkih ispitivanja prije registracije lijeka jer takve studije prekratko traju. Primjer ovog tipa nuspojave jest npr. analgetska nefropatija pri dugotrajnom uzimanju nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAR).

Nuspojave **tipa D** su kasne nuspojave. Radi se o nuspojavama koje su posljedica uze-tog lijeka, a javljaju se u trenutku kada se lijek više ne uzima. Zapravo se najčešće radi o tera-togenosti, odnosno malformacijama u djece koje su nastale kao posljedica nekih lijekova koje su uzimale njihove majke za vrijeme trudnoće. Kao primjer se mogu navesti: rascjep nepca u djece majki koje su u prvom trimestru uzimale SSRI ili benzodiazepine, fokomelija kao pos-ljedica uzimanja talidomida također u prvom trimestru trudnoće, odnosno pojava vaginalnog adenokarcinoma i karcinoma dojki u žena čije su majke za vrijeme trudnoće uzimale dietil-stilbestrol. U ovu skupinu također spada razvoj sekundarnog tumora u bolesnika nakon liječe-nja antineoplastcima.

Nuspojave **tipa E** su nuspojave koje nastaju ubrzo nakon prekida liječenja određenim lijekom. Radi se o simptomima sustezanja nakon naglog prekida uzimanja benzodiazepina ili SSRI-a, „rebound“ hipertenziji kod naglog ukidanja antihipertenziva kao što su klonidin ili metildopa, odnosno infarktu miokarda u slučaju naglog prekida dugotrajne terapije beta blo-katorima.

Pod nuspojave **tipa F** podrazumijevamo terapijski neuspjeh. Do prije nekoliko godina terapijski neuspjeh pojedinim lijekom nije se smatrao nuspojavom, ali danas je uvriježeno da se i njega treba prijavljivati. Postoje pojedine grupe lijekova, kao što su cjepiva, gdje se posebna pažnja polaže na ovaj tip nuspojave. Potrebno je prijaviti svaki slučaj oboljenja od bolesti divljim sojem (bakterija, virus) protiv koje je bolesnik bio cijepljen, jer to govori o slaboj imunogenosti cjepiva. Lijekovi koji se također posebno prate su i oralni kontraceptivi, antivirusni lijekovi isl.

Koncept da bi određene *genske varijacije* u metabolizmu lijeka mogle biti povezane s različitim koncentracijama lijeka i njihovih metabolita u plazmi pojedinih bolesnika, a time i nuspojavama, toksičnim djelovanjem lijeka ili izostankom učinka razmatran je već krajem 19. stoljeća, dok su prvi primjeri obiteljskog pojavljivanja neobičnih reakcija na lijek zbog ovog mehanizma zabilježeni sredinom 20. stoljeća. Primjer za to je nedostatak glukoza-6-fosfat dehidrogenaze (G6PD) koji dovodi do česte pojave hemolitičke anemije uzrokovane oksidativnim lijekovima (sulfonamidi, nitrofurantoin, acetil-salicilna kiselina, fenacetin, kinidin).

*Spol.* Nuspojave se češće događaju u žena, te je prema podacima iz izvješća o nuspojavama lijekova HALMED-a za razdoblje 2005. – 2010. godine u Republici Hrvatskoj odnos bio 60% : 40% u korist žena. Ovi podaci se ne razlikuju od podataka iz svjetske literature. Gledajući po mehanizmu nastanka nuspojava, nuspojave tipa B se većinom javljaju u žena (oko 80% svih zabilježenih prijava). Žene su podložnije toksičnom učinku digitalisa, češće doživljavaju krvarenje kod primjene heparina, a agranulocitoza uzrokovana kloramfenikolom tri puta je češća u žena nego u muškaraca. Ova raspodjela po spolu vezana je zapravo za genske varijacije, te će u bližoj budućnosti moći biti detaljno objašnjena farmakogenomikom.

*Dob.* Zdravstveni radnici nerado prijavljuju nuspojave lijekova u djece, vjerojatno iz razloga što se mnogobrojni lijekovi daju „off label“ tj. van propisanih indikacija. Većina zabilježenih nuspojava u djece su nuspojave nakon cijepljenja. Broj nuspojava za klasične lijekove počinje rasti u dobnim skupinama iznad 41. godine života, s izrazitim rastom u bolesnika iznad 60. godine starosti. Povećana učestalost u starijoj dobi objašnjava se promijenjenom farmakokinetikom u starijih osoba, te više pridruženih bolesti.

*Oštećenje funkcije bubrega ili jetre* dovodi do smanjenog izlučivanja i metabolizma uzetog lijeka što uzrokuje povišenje koncentracije lijeka u plazmi, a time i mogućnost pojave nuspojava. S druge strane, ako se lijek aktivira putem jetrenog metabolizma, do terapijskog neuspjeha može doći i zbog smanjenja koncentracije lijeka na mjestu djelovanja [1].

Nuspojave se često pojavljuju kao akutna stanja koje zahvaćaju pojedine organe ili organske sustave. Najčešće *kardiovaskularne* nuspojave su aritmije koje najčešće izazivaju antiaritmici, digitalis i lijekovi koji produžuju QTc interval, a čije djelovanje nije primarno kardijalno kao što su cisaprid, kinoloni, neki antipsihotici ili neki antihistaminici. Smjernice u kliničkim i pretkliničkim ispitivanjima lijekova danas nalažu da se za sve nove lijekove treba testirati njihov utjecaj na QTc interval čije produženje može dovesti do fatalnih kardijalnih aritmija (Torsades de pointes) – iznenadne smrti. U kardiovaskularne nuspojave ubraja se i akutni infarkt miokarda koji mogu izazvati sumatriptan, nifedipin, amfetamini i sl. Nedavno su povučeni lijekovi za liječenje debljine (u 2010. godini) jer je se ispostavilo da liječenje sibutraminom povećava rizik kardiovaskularnih komplikacija u bolesnika koji imaju kardiovaskularnu bolest u podlozi. Također se može govoriti o povećanoj ukupnoj kardiovaskularnoj smrtnosti (akutni infarkt, CVD) što je dokazano za COX<sub>2</sub> inhibitore. Najčešća akutna *gastrointestinalna* nuspojava je gastrointestinalno krvarenje iz gornjeg dijela probavnog trakta uzrokovano nesteroidnim antireumaticima (NSAR), što je i vodeća nuspojava koja za posljedicu ima hitnu hospitalizaciju. Za piroksikam je zbog toga promijenjeno doziranje i maksimalna dnevna doza je sada iznosi 20 mg jer je dokazano da je krvarenje iz gastrointestinalnog trakta izravno povezano s višom dozom lijeka (u 2007. godini). Također su za piroksikam tada ukinute indikacije liječenja akutnih, kratotrajnih bolova kao što su glavobolje, zubobolje, menstrualni bolovi, akutne mialgije jer se ozbiljna nuspojava toksična epidermalna nekroliza pojavljuje unutar prvih 10 dana terapije! Proljev je česta nuspojava vezana za antimikrobnu terapiju. Posebno je značajan proljev kao posljedica prerastanja normalne crijevne flore s bakterijom *Clostridium difficile* koja uzrokuje pseudomembranozni kolitis koji se najčešće pojavljuje prilikom terapije s klindamicinom (u 1:1000 do 1:10 000 bolesnika) što je ovisno o dozi lijeka. No, pseudomembranozni kolitis je i nuspojava drugih antimikrobnih lijekova kao što su penicilini, makrolidi, cefalosporini, tetraciklini, kinoloni i sulfonamidi. *Koža* je organ na kojem se najčešće zamjećuju nuspojave lijeka. To su prvenstveno reakcije preosjetljivosti kao što su osipi, urtike, svrbež i sl. Najteža kožna nuspojava je Stevens Johnsonov sindrom koji u 30% bolesnika ima smrtni ishod. Može biti povezan s visoko specifičnim defektom u detoksikaciji metabolita sulfonamida i antikonvulziva, što može biti nasljedno, te je prije propisivanja ovih lijekova važno uzeti dobru obiteljsku anamnezu. Lijekovi koji najčešće uzrokuju ovu nuspojavu jesu NSAR (pirkosikam!), sulfonamidi, karbamazepin, aminopenicililini, fenitoin, kombinacija sulfasalazina i trimetoprima, alupurinol. *Bubrežne nuspojave* uključuju akutnu bubrežnu insuficijenciju, nefritički sindrom, nefrokolike, hematuriju, selektivne tubularne defekte i opstruktivnu nefropatiju. Smanjenu renalnu perfuziju mogu uzrokovati aminogliko-

zidi, diuretici, NSAR, inhibitori konvertaze angiotenzina I, dok akutno tubularno oštećenje prvenstveno uzrokuju aminoglikozidi, teratociklini ili karbamazepin. Akutni intersticijski nefritis mogu uzrokovati penicilini, rifampicin, tiazidi, dok do oštećenja bazalne glomerularne membrane u prvom redu dovode preparati zlata, penicilamin, inhibitori angiotenzina I. Od *neuroloških* simptoma uvijek ozbiljna nuspojava je epileptički napad. Direktnim djelovanjem ekscitacijom neurona mogu ga izazvati halotan, beta<sub>2</sub> agonisti, antidepresivi, dok indirektnim djelovanjem istu nuspojavu mogu izazvati hipoglikemici, selektivni inhibitori ponovne pohrane serotonina i sl. Ekstrapiramidne nuspojave veliki su problem antipsihotika, ali i antiemetika i antidepresiva. Neuroleptički maligni sindrom je rijetka, ali ozbiljna nuspojava antipsihotika. Sindrom može varirati od blagog do teškog oblika što može dovesti i do smrtnog ishoda [1, 2].



## **1.2. Praćenje nuspojava lijekova u Republici Hrvatskoj – Nacionalna baza lijekova (VigiFlow)**

Tradicija praćenja nuspojava u Republici Hrvatskoj seže u 1974. godinu kada se bio osnovao Centar za lijekove na KBC Rebru (KBC Zagreb), i koji je počeo djelovati kao Nacionalni centar za nuspojave lijekova za cijelo područje bivše države. Jugoslavija je bila 1978. godine 18. članica Programa svjetske zdravstvene organizacije za praćenje nuspojava lijekova koja se bila osnovala 10 godina ranije kao odgovor na talidomidsku katastrofu koju je pogodio svijet. Zemlje osnivačice su bile zemlje koje su bile najviše pogođene katastrofom (Njemačka, Švedska, Velika Britanija, Australija, Japan, Novi Zeland, Francuska), te SAD koji je katastrofu izbjegao zahvaljujući organiziranom regulatornom tijelu za lijekove - Food and Drug Administration (FDA).

Od 10. ožujka 2005. godine Nacionalni centar za nuspojave seli u hrvatsku regulatornu agenciju za lijekove – Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED). HALMED vodi Nacionalnu bazu nuspojava lijekova i cjepiva koji se vodi u aplikaciji VigiFlow kao program Svjetske zdravstvene organizacije i koji je na taj način izravno povezan i sa Svjetskom bazom nuspojava koja u ovom trenutku sadrži više od 7 miliona prijava iz čitavog svijeta. Rad Nacionalnog centra za nuspojave i regulatornog tijela za farmakovigilanciju za Republiku Hrvatsku između ostalog se sastoji od prikupljanja i analize nuspojava koje zaprima spontano od zdravstvenih radnika, ali od 2009. godine također i od pacijenata. Svaki prijavitelj dobiva individualni odgovor nakon što stručnjaci u Agenciji prijavu razmotre, ocjene i upišu u nacionalnu bazu nuspojava. Komunikacija s prijaviteljima je jedna od osnovnih postulata rada HALMED-a jer se na taj način može izravno utjecati na racionalnu farmakoterapiju i individualizaciju terapije bolesnika. Imajući to u vidu 2008. godine HALMED je započeo suradnju s Kliničkim bolničkim centrom Zagreb i Laboratorijem za farmakogenomiku, na način da se pacijenti na temelju prijavljenih i obrađenih nuspojava, a preko zdravstvenih radnika, upućuju za pojedine lijekova na dodatno farmakogenomičko testiranje – a sve u svrhu prevencije nuspojava tipa A koji se zbog farmakokinetičkih karakteristika za pojedine lijekove kod njih razvijaju. Nacionalna baza lijekova (VigiFlow) je do kraja 2011. godine sadržavala više od 7000 prijava nuspojava, a koje čine osnovu za dokumentaciju o lijeku za njegovu sigurnu primjenu. Svi podaci koji su na ovaj način skupljeni obradom stvaraju signale koje se kasnije putem regulatornog djelovanja HALMED-a pretiče u informacije za zdravstvene radnike (Sažetak opisa svojstava lijeka - SPC) odnosno za pacijenta kroz Uputu koji se prilaže lijeku - PIL.

### 1.3. Interakcije lijekova

Interakcije lijekova mogu otežati liječenje jer mogu povećati (toksično) ili smanjiti djelovanje lijeka. Dovode do promjene koncentracije lijeka na mjestu djelovanja ili do promjene na mjestu djelovanja bez promjene u koncentraciji lijeka. O interakcijama se diferencijalno dijagnostički mora voditi računa uvijek kada dolazi do neuobičajenog odgovora na liječenje tijekom davanja više od jednog lijeka istovremeno. Potrebno je znati i da interakcije nisu uvijek neželjene. Naprotiv, u nekim situacijama one su potrebne i nužne. Interakcije se mogu podijeliti na farmakokinetičke (apsorpcija, distribucija, metabolizam, eliminacija) i farmakodinamske (na razini izravnog djelovanja lijeka na ciljne organe, tkiva ili stanične receptore).

Među važne farmakokinetičke interakcije koje dovode do smanjene koncentracije lijeka na mjestu ciljnog djelovanja ubrajamo i indukciju enzima citokroma P450 (CYP). Ekspresija nekih gena odgovornih za metabolizam i eliminaciju lijekova iz organizma, posebno stvaranje enzima CYP3A, može biti inducirana lijekovima kao što su rifampin, karbamazepin, fenitoin, Gospina trava, ili pak pušenjem – nikotinom, odnosno kroničnom ingestijom alkohola (etanola). Uzimanjem ovih inducibilnih tvari snižuje se koncentracija pojedinih lijekova 2 do 3 tjedna nakon početka njihovog uzimanja jer tada dolazi do pojačane ekspresije gena. Kolika će biti indukcija citokroma ovisi i o individualnim karakteristikama bolesnika (farmakogenomika). Inhibicija citokroma P450 je vrlo važan čimbenik za nastanak interakcija i nuspojava lijekova. Ketokonazol i itrakonazol u uobičajenoj, te flukonazol u visokoj dozi vrlo su moćni inhibitori enzima iz obitelji CYP3A. Klaritromicin i eritromicin (ali ne i azitromicin!) klinički signifikantno inhibiraju CYP3A4. Flukonazol je potentan inhibitor CYP2C9. Primjeri inhibitora ovog istog enzima u nešto manjem obimu su i antagonisti kalcijevih kanala kao što su diltiazem, nikardipin i verapamil, odnosno ciklosporin. Fenitoin kao poznati induktor CYP3A, inhibira CYP2C9, što onemogućava metaboliziranje losartana u njegov aktivni oblik i time dolazi do pada koncentracije aktivnog metabolita u plazmi što posljedično dovodi do neučinkovite terapije losartanom. Inhibitori povratnog unosa serotonina (SSRI), paroksetin i fluvoksamin, su potentni inhibitori enzima CYP.

Interakcije lijekova predstavljaju trajan izazov kliničarima u borbi s bolesti i njezinim liječenjem. I dok su prije trideset godina u procjeni sigurne primjene lijeka enzimi CYP predstavljali glavno područje interesa, posljednje desetljeće intenziviralo je istraživanja u području transportnih proteina. Od prvih spoznaja o P-glikoproteinu i njegovoj ulozi u interakci-

jama lijekova, znanstvena istraživanja transportera rezultiraju stalno rastućom listom novih transportera smještenih u crijevima, jetri, bubrezima, krvno-mozgovnoj brani i placenti, a koji značajno utječu na bioraspoloživost lijeka. Svi ti transporteri imaju mnoge zajedničke supstrate i inhibitore. Također je važno istaknuti mrežu ispreplićućih transportera i enzima koji također dijele zajedničke supstrate i inhibitore, a njihova uzajamna aktivnost rezultira vrlo učinkovitim uklanjanjem ksenobiotika. Isprepletenu aktivnost transportera i enzima CYP igra ključnu ulogu u dispoziciji lijekova. Zbog njihovog složenog uzajamnog međudjelovanja i zbog nepostojanja specifičnih inhibitora za pojedine transportere i enzime CYP, teško je odrediti njihovu pojedinačnu ulogu u interakcijama lijekova. Za vrijeme razvoja određenog lijeka, nije moguće predvidjeti sve njegove moguće kombinacije s drugim lijekovima u kliničkoj primjeni. Stoga je važno procijeniti njegovu maksimalnu netoksičnu sistemsku izloženost u slučaju interakcija s drugim lijekovima. Na kliničke manifestacije nuspojava lijeka utječe sistemski izloženost (AUC i C<sub>max</sub>) lijeku i bolesnikovi intrinzički faktori koji uključuju dob, spol, druge bolesti, funkciju jetara, bubrega i individualnu genetiku. Bolesnikov genetički profil utječe na farmakološki učinak, bioraspoloživost lijeka na njegovom ciljnom mjestu djelovanja. Nedavno je farmakogenetika povezala interakcije lijeka s genotipovima enzima CYP [10]. Izvjesno je i da genski polimorfizam transportera također modulira doze i klinički značaj interakcija lijekova [11]. Stoga se jasno ističe važnost integriranja farmakogenetike u predviđanju interakcija i osiguranju sigurne istovremene primjene više lijekova.

## 1.4. Farmakogenetika - farmakogenomika

Znanstvene spoznaje iz područja farmakogenetike/farmakogenomike omogućuju da se uz kliničke čimbenike (dob, spol, konkomitantne bolesti i terapija, funkcija jetara i bubrega) čimbenike iz okoliša (hrana i drugi spojevi iz okoliša, navike poput pijenja alkohola i pušenja) i genske varijacije uključe u stvaranje algoritama za odabir najprikladnijeg lijeka i doze za svakog pojedinog bolesnika. Među genetičkim čimbenicima koji mogu značajno modulirati kinetiku lijeka istraživanja ukazuju na važnu ulogu polimorfnih metaboličkih enzima iz superporodice citokroma P450(CYP) [12,13] i transportnih proteina iz superporodice ABC, u selektivnoj apsorpciji, metabolizmu, tkivnoj distribuciji i eliminaciji [14].

Istraživanja pokazuju da aktivnost metaboličkog enzima CYP2C9 (kodiran istoimanim genom), i transportera P-glikoproteina (Pgp) kodiran genom *ABCB1/MDR1* modulira farmakokinetičke parametre, međusobne interakcije i terapijsku učinkovitost uključujući i štetne učinke, jer lijek može biti supstrat, inhibitor ili induktor određenog metaboličkog enzima i/ili transportnog proteina. Do sada je opisano više polimorfizama gena *CYP2C9* i *ABCB1*. Predmet različitih istraživanja je njihova povezanost s ekspresijom i funkcijom proteina te utjecaj na farmakokinetičke parametre i ukupan učinak klinički važnih lijekova. Kao i za druge farmakogenetičke čimbenike, uočena je značajna međuetnička i međurasna razlika u učestalosti pojedinih polimorfizama.

Prvenstvena korist od primjene farmakogenomike koja se učestalo ističe u literaturi je njezina potencijalna uloga u smanjivanju nuspojava lijekova (ADR) [15-19]. Neke nuspojave koje su nastale zbog genetičkih varijacija, a za koje se ranije smatralo da se ne mogu izbjeći, sada se mogu predvidjeti [20]. Nuspojave se mogu reducirati selekcijom odgovarajućih lijekova i doza u bolesnika čija je sposobnost metaboliziranja smanjena zbog genetičkih varijacija odgovornog enzima. Nastanak ADR ovisi o nizu čimbenika poput varijabilnosti u farmakokinetici i farmakodinamici, komorbiditetima, i drugim čimbenicima. Jedan od važnih čimbenika koji može modificirati farmakokinetičke osobine lijeka su genetičke varijacije enzima CYP, koje mogu pojačati ili inhibirati fazu I metabolizma lijeka.. U literaturi nalazimo podatke koje je objavio Phillips sa suradnicima [5], u kojima navodi da se od 27 lijekova koji se najčešće spominju u studijama o nuspojavama njih 59% metabolizira enzimima koji pokazuju različite oblike genetičkog polimorfizma odgovornog za smanjenu metaboličku aktivnost. Za nasumce odabrane lijekove ta genetička varijabilnost je bila između 7% do 22%. Autori su

zaključili da farmakoterapija prilagođena prema individualnom genetičkom ustrojstvu može rezultirati klinički značajnim smanjenjem nuspojava. Posljednjih godina raste svijest o ulozi genetičkih polimorfizama u nastanku neželjenih reakcija na lijek. Bolesnici se mogu podvrgnuti genotipizaciji da bi se odredile njihove farmakogenetičke osobine i tako izbjegla ili umanjila mogućnost razvoja nuspojava. Nažalost spoznaje o genetičkoj predispoziciji često nisu prepoznate od strane liječnika ili farmaceuta koji prijavljuju nuspojavu i stoga farmakogenetičko testiranje još nije sasvim zaživjelo u kliničkoj praksi [21].

U slučaju kada se ustanovi da je metabolizam nekog lijeka pod utjecajem genetičke varijabilnosti treba procijeniti od kolike je to važnosti za određeni lijek. Često je teško procijeniti kolika je upravo uloga genetičke varijabilnosti u razvoju neke nuspojave jer to podrazumijeva analizu kompleksnih podataka i čimbenika koji su uključeni u razvoj svake nuspojave. Ipak definiraju su kriteriji koji se mogu primijeniti u procjeni mogućeg doprinosa farmakogenomskih podataka u smanjenju nuspojava lijeka. Ti kriteriji mogu poslužiti kao vodič u budućim studijama, pomoći kliničarima u savladavanju ove problematike i poslužiti kao ishodište u kompleksnijim, sveobuhvatnim analizama učinkovitosti i isplativosti prikupljanja farmakogenomskih podataka (engl. *cost-effectiveness, cost-benefit*).

#### 1.4.1. Citokromi P450(CYP)

Superporodica citokroma P450(CYP) predstavlja najvažnije enzime u fazi I metabolizma lijekova, koji sudjeluju u oksidacijskim reakcijama brojnih endogenih spojeva i ksenobiotika, uključujući više od 90% lijekova u primjeni. Više od 90% oksidacijskih reakcija događa se putem enzima CYP1A2 (4%), 2A6(2%), 2C9(10%), 2C19 (2%), 2E1 (2%), 2D6 (30%), i 3A4 (50%). Varijabilnosti u sadržaju i aktivnosti enzima CYP mogu imati značajan utjecaj u odgovoru organizma na primjenjeni lijek. Svi enzimi CYP su podložni inhibiciji a većina ih je također i inducibilna. Genetičke mutacije imaju važnu ulogu u modulaciji enzimske aktivnosti većine tih enzima, s posebnim naglaskom na CYP2C9, 2C19, 2D6, a što je predmet brojnih farmakogenetičkih studija [22].

#### 1.4.1.1. CITOKROM P450 2C9 (CYP2C9)

Gray i suradnici [23 ] identificirali su *CYP2C9* iz skupine gena *CYP2C*, sakupljenih u regiji od 500kb na kromosomu 10q24. Skupina sadrži četiri gena u slijedu *CYP2C8-CYP2C9-CYP2C19-CYP2C18*. Više je studija identificiralo vezu jednonukleotidnih polimorfizama (*engl. single nucleotide polymorphism - SNP*) između gena *CYP2C8* i *CYP2C9* [24-26]. *CYP2C9* je primarno izražen u jetrima, zauzima oko 20% ukupnog jetrenog sadržaja enzima CYP, a razina ekspresije se smatra drugom po veličini među izoformama CYP [27]. Samo je *CYP3A4* kvantitativno više izražen u humanim jetrima. Procjenjuje se da je *CYP2C9* uključen u metabolizam 15-20% svih lijekova koji prolaze fazu I metabolizma.

Enzim *CYP2C9* je podložan inhibiciji i indukciji različitim lijekovima i drugim spojevima što može dovesti do različitih klinički važnih interakcija. Među *inhibitore* *CYP2C9* ubrajamo više skupina lijekova: antidepresivi: fluoksetin, fluvoksamin, paroksetin, sertralin; anti-epileptici: karbamazepin, felbamat, topiramat; kardiovaskularni: amiodaron, nikardipin, nifedipin; antivirusni za HIV; inhibitori HMG-CoA reduktaze: atorvastatin, fluvastatin, simvastatin; oralni hipoglikemik gliburid; inhibitori protonske pumpe; ostali: anastrozol, cimetidin, klopidogrel, flukonazol, ketokonazol, metronidazol, modafinil, izoniazid, sulfametoksazol, tenipozid, valproati, zafirlukast. Od *induktora* *CYP2C9* najpoznatiji su deksametazon, fenobarbiton, karbamazepin, primidon, rifampin, ritonavir, gospina trava. Primjena induktora povećava klirens lijekova koji se metaboliziraju putem *CYP2C9*. Tako je pokazano da je klirens losartana, fenitoina, tolbutamida i S-varfarina bio udvostručen u zdravih dragovoljaca i bolesnika koji su uzimali rifampicin [28,29]. Primjena inhibitora *CYP2C9* može dovesti do opasnih interakcija s drugim lijekovima s posebnim naglaskom na lijekove s uskim terapijskim rasponom poput S-varfarina, tolbutamida i fenitoina [30]. Brojne studije su dokumentirale pojačani antikoagulacijski učinak varfarina u bolesnika na istodobnoj terapiji sa amiodaronom [31,32]. *CYP2C9* također sudjeluje u metabolizmu nekoliko prirodnih i biljnih spojeva. Na primjer *CYP2C9* i 1A2 su glavni enzimi odgovorni za metabolizam metileugenola. *CYP2C9* i *CYP2C19* sudjeluju u oksidaciji limonena. I za flavonoide galangin i kempferid je pokazano *in vitro* da podliježu metabolizmu putem *CYP2C9*. Osim toga *CYP2C9* također sudjeluje u oksidaciji nekoliko važnih endogenih spojeva poput progesterona, testosterona, 17 $\alpha$ -etinilestradiola, retinoične i arahidonske kiseline [33].

## Struktura CYP2C9

Kristalnu strukturu humanog enzima CYP2C9 je opisao Williams sa suradnicima [34] (2003) i to za konfiguraciju CYP2C9 u kompleksu s varfarinom i za nevezani CYP2C9. Struktura je pokazala povezanost CYP2C9 i varfarina, otkrivajući novo vezno mjesto, ukazujući da CYP2C9 za vrijeme svoje biološke funkcije može simultano prihvatiti multiple ligande, što predstavlja vjerojatnu molekularnu osnovu za razumijevanje složenih interakcija lijek-lijek. Strukturna analiza ukazuje da se pri vezanju varfarina CYP2C9 može alosterički promijeniti. Opisana je i kristalna struktura CYP2C9 u kompleksu sa NSAR flurbiprofenom, a dobivena saznanja su doprinijela boljem razumijevanju supstrate selektivnosti za enzim CYP2C9 i učincima koje imaju genske mutacije na njegovu katalitičku aktivnost [35].

## Genetički fenotipovi i nuspojave lijekova

Gen koji kodira enzim CYP2C9 je polimorfan, s funkcionalnim varijantama koje imaju visku farmakogenetičku značajnost. Polimorfizam gena *CYP2C9* određuje tri kategorije fenotipova s obzirom na intenzitet metabolizma [36]. Fenotip dobro izraženog, brzog metabolizma (engl. *extensive metabolizer, EM*) s oba funkcionalna alela „divljeg“ tipa (engl. *wt- wild type*) očekivana je normalna osobina najvećeg dijela populacije. Fenotip slabog (sporog) metabolizma (engl. *poor metabolizer, PM*), s oba mutirana alela, ima osobinu nagomilavanja specifičnih lijekova - supstrata u organizmu zbog smanjene ili dokinute aktivnosti enzima, autosomno je recesivno svojstvo. Ukoliko postoji jedan funkcionalni i drugi mutirani alel govorimo o intermedijarnom metaboličkom fenotipu. (engl. *intermediate metabolizer IM*). Promjene u metaboličkoj aktivnosti a koje su posljedica genetičkih varijanti u *CYP2C9* imaju glavnu ulogu u patogenezi štetnih učinaka lijeka odnosno nuspojava (ADR). Bolesnici s niskom enzimskom aktivnosti imaju veliki rizik razvoja ADR, posebno u slučaju lijekova-supstrata CYP2C9 s uskim terapijskim rasponom, poput S-varfarina, fenitoina, glipizida, i tolbutamida [37]. U većini studija ispitivala su se dva česta polimorfizma, nesinonimne varijante *CYP2C9*\*2 (R144C, [rs1799853]) i *CYP2C9*\*3 (I359L, [rs1057910]), koje dovode do sporog metaboličkog fenotipa. Obje varijante imaju značajno veću učestalost u bjelačkoj populaciji u odnosu na afričku i azijsku populaciju [38,39]. Osobe nosioci navedenih varijanti imaju rizik razvoja produženog vremena krvarenja i težih krvarenja pri terapiji varfarinom [40], veću vjerojatnost niskih razina šećera u krvi za vrijeme terapije glipizidom ili tolbutamidom [41] i češće simptome predoziranja fenitoinom [42]. Bolesnici spori metabolizatori no-

socii haplotipa \*2 i \*3 trebaju niže doze varfarina za postizanje sličnih antikoagulantnih učinaka kao i bolesnici sa bar jednim \*1 (wt) haplotipom [43]. Ipak treba napomenuti da se danas zna da je genotip *CYP2C9* odgovoran samo za dio varijabilnosti u osjetljivosti na varfarin jer su genotip *VKORC1* (gen za vitamin K - epoksid reduktazu), dob, i težina također jedni od ključnih čimbenika u predviđanju terapijske doze varfarina [44]. *CYP2C9* je odgovoran za oko 90% metabolizma fenitoina, a haplotipovi *CYP2C9*\*2 i \*3 umanjuju metabolizam fenitoina [45,46]. Osim varijanata \*2 i \*3, opisan je veliki broj *Single Nucleotide Polymorphism* - SNP u regulatornoj i kodirajućoj regiji gena *CYP2C9* (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c9.htm>). Identificirana su 33 varijantna alela *CYP2C9* (\*1B do \*34). Najučestaliji su *CYP2C9*\*2 i *CYP2C9*\*3 koji se od divljeg tipa *CYP2C9*\*1 razlikuju u zamjeni jednog nukleotida. U bjelačkoj populaciji učestalost sporih metabolizatora, homozigotnih nosioca varijantnih alela je 3-5 %. U osoba sa genotipom *CYP2C9*\*2/\*2 ili \*3/\*3 učinci na metabolizam lijeka i posljedično farmakokinetiku su najizraženiji. Heterozigoti također mogu pokazivati značajnu varijabilnost farmakokinetičkih parametara. Posebno su značajne razlike u nosioca alela *CYP2C9*\*3, koji za većinu supstrata imaju ~50% snižen klirens u usporedbi s genotipom wt/wt (\*1/\*1). To je dokumentirano za slijedeće lijekove: varfarin, acenokumarol, tolbutamid, glipizid, glimepirid, fenitoin, fluvastatin, ibuprofen, celekoksib, kandesartan, tenoksikam. Za neke je polimorfizme ustanovljena povezanost sa smanjenom aktivnosti enzima u usporedbi sa aktivnosti „divljeg-wt“ genotipa u pokusima *in vitro*, a vrlo je malo ispitivanja provedeno *in vivo*. Promotorska regija *CYP2C9* sadrži važne regulatorne elemente: dva HNF4 mjesta, vezno mjesto za nuklearni receptor za pregnan X, mjesto za konstitutivni androstan receptor (CAR)/PXR, i element koji odgovara na glukokortikoide [47,48]. Publikacije na temu 22 poznata i 9 novih promotorskih SNP u ispitivanjima „in-vitro promoter activity assay“ sugeriraju da genske varijante unutar regulatorne sekvence *CYP2C9* vjerojatno doprinose fenotipskim razlikama *CYP2C9*, i unutar i između različitih populacija, neovisno o poznatim varijantama u eksonima [49]. Smanjena metabolička aktivnost *CYP2C9* može otežati prilagodbu doze i doprinijeti pojavi neželjenih učinaka lijeka. Literaturni podaci iznose da nosioci genotipa *CYP2C9*\*3/\*3 imaju ~ 10% vrijednosti klirensa varfarina u odnosu na wt/wt genotip [50]. Za ostale navedene lijekove supstrate *CYP2C9* klirens je između 30-60% vrijednosti nosioca divljeg tipa. Ninomiya i sur. navode da je genetički polimorfizam u podporodici *CYP2C* povezan s povišenim serumskim koncentracijama fenitoina i intoksikacijom središnjeg živčanog sustava [51]. I drugi su opisali opasne kliničke posljedice za bolesnike nakon liječenja standardnim dozama fenitoina vezane uz inaktivirajuću mutaciju u *CYP2C9* [52]. Navodi se i teška intoksikacija fenitoinom u opisu slučaja osobe



sa genotipom CYP2C9\*3/\*3 [53]. Osim genetičkih polimorfizama interindividualna varijabilnost enzimske aktivnosti CYP2C9 može biti modulirana i čimbenicima okoliša: enzim induciraju ligandi za CAR (konstitutivni androstan receptor), PXR (receptor za pregnan X), i GR (element koji odgovara na glukokortikoide) preko različitih elemenata u promotorskoj regiji, a inhibiraju ga oralni kontraceptivi [54].

Važno je istaknuti da dokazana inter-etnička varijabilnost podupire potrebu za pravilnom selekcijom kontrolnih skupina, a protivi se upotrebi surogatnih kontrola u ispitivanjima povezanosti polimorfnih alela *CYP2C9* i štetnih učinaka lijekova supstrata [55].

Među lijekove - supstrate koji se najvećim dijelom metaboliziraju putem CYP2C9 i od posebne su kliničke važnosti pripadaju antikoagulansi, nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAR), oralni antidijabetici, antiepileptici te fluvastatin.

## 1.5. Antikoagulansi

Oralni kumarinski antikoagulansi, uključujući varfarin, acenokumarol i fenprokumon se koriste za dugotrajno liječenje i prevenciju arterijskih i venskih tromboembolijskih bolesti [56]. Djeluju kao antagonisti vitamina K inhibirajući podjedinicu C1 vitamin K 1 2,3,-epoksid reduktaze (VKORC1) [57,58]. VKORC1 ima važnu ulogu u regeneraciji reduciranog oblika vitamina K iz oksidiranog oblika u jetrima, što je važno za sintezu koagulacijskih faktora II, VII, IX, X, te antikoagulacijskih proteina C i S. Iako se sva tri kumarinska antikoagulansa metaboliziraju najvećim dijelom u jetrima, te se pretvaraju u inaktivne monohidroksilirane metabolite, ipak se opažaju međusobne razlike u metabolizmu i farmakokinetici [59]. S-enantiomer varfarina, acenokumarol i fenprokumon su supstrati enzima CYP2C9 i najviše pridonose antikoagulacijskom učinku. R i S enantiomeri acenokumarola imaju jednaku aktivnost, samo je veći klirens S-enantiomera acenokumarola. Iz toga se može zaključiti da R-acenokumarol doprinosi većem antikoagulacijskom učinku [60]. Međutim, relativni doprinos enzima CYP2C9 klirensu kumarinskih antikoagulansa se razlikuje. Općenito enzim CYP2C9 ima najvažniju ulogu u klirensu varfarina, a slijede ga acenokumarol i fenprokumon. Uloga CYP2C9 u klirensu fenprokumona je manje važna zbog sudjelovanja enzima CYP3A4 kao dodatnog katalizatora u hidroksilaciji fenprokumona [61] i značajnom izlučivanju nepromijenjenog oblika u žuči i urinu, dok se varfarin i acenokumarol gotovo potpuno eliminiraju jetrenim metabolizmom. Možemo zaključiti da polimorfizam enzima CYP2C9 ima značajan utjecaj na farmakokinetiku i farmakodinamiku svih oralnih antikoagulansa [62].

### 1.5.1. Varfarin

Varfarin je najčešće korišten lijek u terapiji tromboembolijskih događaja poput duboke venske tromboze, infarkta miokarda i moždanog udara [63]. Ima uzak terapijski raspon a njegov učinak se prati pomoću parametra INR (2-3,5, ovisno o indikaciji) [64,65]. Varfarin je racemična smjesa R- i S-enantiomera. Aktivnost dvaju enantiomera se razlikuje u inhibiciji podjedinice VKORC1, s tim da je S-enantiomer jači inhibitor od R-enantiomera. Oko 70% ukupne antikoagulantne aktivnosti pripada S-enantiomeru. Poluvijek R-varfarina je 37 do 89 sati, dok za S-varfarin iznosi 21-43 sata. Eliminira se gotovo u cijelosti putem jetrenog metabolizma, a rezultat su hidroksilirani inaktivni metaboliti (glavni put), dok se redukcijom stvaraju metaboliti - varfarinski alkoholi. Varfarin je specifičan po svom stereoselektivnom i

regionalno-specifičnom metabolizmu. S-varfarin se metabolizira enzimom CYP2C9 (80% i više), što rezultira nastajanjem 6- i 7-hidroksiliranih metabolita. R-varfarin se metabolizira najviše enzimom CYP1A2 i CYP3A4 do 6-, 8- i 10- hidroksiliranih metabolita [66]. Enzimi CYP2C8, CYP2C18 i CYP2C19 mogu također katalizirati hidroksilaciju varfarina. Hidroksilirani metaboliti se dalje konjugiraju i izlučuju u urinu i u manjoj mjeri preko žuči. Velik broj lijekova i ljekovitih biljnih pripravaka mogu mijenjati farmakokinetiku i farmakodinamiku varfarina i stoga je potreban oprez pri komedikaciji bolesnika na terapiji varfarinom. Kod pojedinaca, homozigotnih nosioca alela *CYP2C9\*2* ili *CYP2C9\*3*, uočeno je smanjenje klirensa S-varfarina i lošiji odgovor na varfarinsku terapiju, a nosioci genotipa *CYP2C9\*3/\*3* su imali značajno promijenjenu osjetljivost na varfarin [67-74]. U pojedinaca, homozigotnih nosioca alela *CYP2C9\*3* uočen je za 90% smanjen klirens S-varfarina, u odnosu na homozigote za divlji tip alela [72]. Bolesnici nosioci alela *CYP2C9\*2* ili *CYP2C9\*3* su imali znatno veću koncentraciju varfarina u plazmi, nego nosioci alela divljeg tipa [68,71]. Smanjen metabolizam lijeka uskog terapijskog raspona kao što je varfarin, može uzrokovati teške kliničke komplikacije. Za nosioce polimorfizama preporučuju se niže početne doze i doze održavanja, te ističe njihova veća podložnost razvoju komplikacija u vidu krvarenja [75] pogotovo na početku terapije. Opće je prihvaćen stav da farmakogenetičko testiranje na polimorfizme *CYP2C9* koristi u identificiranju podskupina bolesnika koje mogu imati smanjeni klirens varfarina, poteškoće pri početku terapije varfarinom, i povećan hemoragijski rizik. Ta otkrića jasno pokazuju potrebu za kliničkim ocjenjivanjem i utvrđivanjem genotipa *CYP2C9* pri utvrđivanju optimalne varfarinske terapije. Pojedinci koji trebaju niže doze varfarina su 4 do 6 puta češće nosioci barem jednog varijantnog alela *CYP2C9* u usporedbi s općom populacijom. Mnoge kliničke studije pokazale su na više različitih skupina bolesnika važnu poveznicu između postojanja jednog ili više alela *CYP2C9\*2* i *CYP2C9\*3* i potrebe za nižim dozama varfarina. U većini slučajeva najnižu dozu varfarina trebaju pojedinci koji su homozigoti za alel *CYP2C9\*3* [76-87]. U meta-analizi provedenoj 2005. godine, [77], u kojoj je sudjelovalo 2775 bolesnika uključenih u 9 kliničkih studija prosječna dnevna doza varfarina je bila niža za 17% kod bolesnika koji su imali barem jedan alel *CYP2C9\*2*, dok je u nosioca barem jednog alela *CYP2C9\*3* bila niža za 37% u usporedbi s pacijentima s alelom divljeg tipa. U drugoj meta analizi [88], koja je obuhvaćala 7907 bolesnika uključenih u 39 studija otkriveno je da pojedinci s genotipom *CYP2C9\*1/\*2*, *\*1/\*3*, *\*2/\*2*, *\*2/\*3* ili *\*3/\*3* trebaju 19,6%, 33,7%, 36,0%, 56,7% i 78,1% pojedinačno nižu dozu varfarina, u usporedbi s nosiocima divljeg genotipa. Tri genotipa *CYP2C9* (*\*1/\*2*, *\*1/\*3*, *\*2/\*2*) su bila povezana sa značajno manjom redukcijom doze u studijama u kojima su bili uključeni i lijekovi s potencijalom stupanja u

interakcije s varfarinom. Utjecaj genotipa CYP2C9 na doze varfarina je bio veći u bolesnika koji nisu primali lijekove koji mogu stupiti u interakciju s varfarinom [88]. Studije u bjelačkoj populaciji na bolesnicima koji nisu uzimali lijekove koji mogu biti u interakciji s varfarinom pokazale su za 20% veći utjecaj genotipova CYP2C9 \*1/\*2 i \*1/\*3 u usporedbi s cjelokupnom populacijom. Uočeno je da polimorfizma CYP2C9 ima utjecaj na pojavljivanje krvarenja zbog prekomjernog antikoagulacijskog učinka varfarina [77,78, 89-91]. U studiji Aithala i suradnika [78] se ističe da bolesnici s varijantama CYP2C9 imaju veće poteškoće u postizanju željenog raspona INR-a na početku terapije varfarinom i imaju povećan rizik od težih krvarenja. U toj studiji 56% bolesnika koji su primali nižu dozu varfarina ( $\leq 1,5$  mg) su imali vrijednost INR $>4$  u odnosu na 17% ispitanika u kontrolnoj skupini koji su primali širok raspon doza varfarina. Slično je druga studija [90] utvrdila da su komplikacije zbog krvarenja bile češće kod bolesnika nosioca alela CYP2C9\*2 i/ili CYP2C9\*3 nego kod nosioca divljeg tipa alela CYP2C9\*1. Meta-analiza iz 2005. godine [77] ukazala je da su bolesnici s alelima CYP2C9\*2 i CYP2C9\*3 podložniji riziku od krvarenja. Relativni rizik od krvarenja za nosioce nekog varijantnog alela iznosio je 2,26. Lima i suradnici [91] su istraživali utjecaj CYP2C9 genotipa na rizik ozbiljnog krvarenja i kvalitetu antikoagulacijske kontrole u brazilskih bolesnika (n=103) na terapiji varfarinom. Genotip CYP2C9 je jedino kliničko svojstvo povezano s rizikom od ozbiljnog krvarenja s vjerojatnim omjerom 4,8 za bilo koju varijantu genotipa s obzirom na divlji tip CYP2C9\*1/\*1. Kumulativna incidencija krvarenja tijekom prvog mjeseca terapije je bila 4,9 puta veća kod bolesnika s varijantnim oblicima alela CYP2C9 u odnosu na ispitanike s wt alelima. Bilo je jednako teško održati željeni raspon INR-a kod bolesnika koji su nosioci alela CYP2C9\*2 ili CYP2C9\*3, te su imali značajno smanjenu vrijednost INR-a. [91]. Bolesnici s barem jednim alelom CYP2C9\*3, trebali su znatno niže doze održavanja ( $3,1 \pm 1,8$  mg; n=14), u odnosu na nosioce genotipa CYP2C9\*1/\*1 ( $5,3 \pm 2,1$ ; n=18), što odgovara smanjenju standardne doze varfarina za 37% [91]. Iako bolesnici nosioci alela CYP2C9\*2 izgledaju prividno manje pogođeni rizikom od ozbiljnog krvarenja nego nosioci alela CYP2C9\*3, te iako se njihova potreba za varfarinom nije puno razlikovala od standardne doze, njihov željeni raspon INR-a je bilo također teško održavati kao i kod bolesnika s genotipom CYP2C9\*1/\*3.

### 1.5.2. Acenokumarol

Acenokumarol, 4'-nitro analog varfarina, je kratkodjelujući kumarinski antikoagulan i koristi se u liječenju i prevenciji tromboembolijskih bolesti. Poluvrijeme eliminacije  $t_{1/2\beta}$  je oko 8 sati. Glavni metabolički put racemičnog acenokumarola je 6 i 7-monohidroksilacija, dok je 8-hidroksilacija sporedni metabolički put. Svi hidroksilirani metaboliti se dalje konjugiraju do pripadajućih O-glukuronida i O-sulfata. Metabolički klirens S-acenokumarola je veći s kraćim poluvremenom u plazmi od oko 2 sata, dok R-enantiomer najviše doprinosi farmakološkom učinku. Enzim CYP2C9 hidroksilira R i S-acenokumarol na poziciji 6-,7-,8-, dok CYP1A2 metabolizira R-acenokumarol (6-hidroksilacija) a CYP2C19 katalizira 6-, 7- i 8-hidroksilaciju [92]. Alel *CYP2C9\*3* povezan je s nižom dozom acenokumarola, većom učestalosti prekomjerne antikoagulacije, te nestabilnim ili produženim stabilnim antikoagulacijskim učinkom [93-105].

### 1.5.3. Fenprokumon

Fenprokumon je dugodjelujući kumarinski antikoagulan koji se koristi u svrhu liječenja i prevencije tromboembolijskih bolesti, uključujući vensku trombozu, tromboemboliju, te plućnu emboliju. Također se koristi za prevenciju i liječenje ishemijskog infarkta kod pacijenata s atrijskom fibrilacijom. Oralna bioraspoloživost je blizu 100% s dugim poluvremenom eliminacije (5-6 dana). Oko 40% oralno uzete doze se izlučuje u urinu ili fecesu kao konjugirani fenprokumon, neovisan od hepatičke hidroksilacije, dok se ostalih 60% izlučuje u obliku konjugata 4'-, 6- i 7-hidroksifenprokumona. Fenprokumon se ponajviše eliminira hepatičkom biotransformacijom u inaktivne monohidroksilirane metabolite, a u manjoj mjeri se reducira. Podliježe 4'-, 6- i 7-hidroksilaciji enzimom CYP2C9, uz doprinos enzima CYP3A4 [92]. 7-hidroksilacija je glavni metabolički put, dok je 8-hidroksilacija sporedni [106]. Svi hidroksilirani metaboliti se konjugiraju do pripadajućih glukuronida i sulfata, te se detektiraju u ljudskoj plazmi i urinu. Polimorfni CYP2C9 katalizira 4'-, 6-, 7- i 8-hidroksilaciju S-fenprokumona, ali je ukupna količina stvorenih metabolita pod istim uvjetima ispitavanja 5 puta manja nego kod S-varfarina [107]. U ljudskim jetrenim mikrosomima S-fenprokumon je imao veću hidroksilacijsku stopu od njegovog R-enantiomera. Enzim CYP2C9 najviše doprinosi 6- i 7-hidroksilaciji za obadva enantiomera fenprokumona. Enzim CYP2C8 također ima važnu ulogu u S-4'-hidroksilaciji. Polimorfni enzimi CYP2C8 i CYP2C9 su katalizatori velikog afiniteta, dok enzim CYP3A4 pokazuje niski afinitet. S-7-hidroksilacija fenprokumona je

bila značajno snižena u uzorcima in vitro s alelnim varijantama *CYP2C9\*2* i *CYP2C9\*3* [108-110]. Za genotip *CYP2C9\*3/\*3* je uočena 4 puta niža stopa 7-hidroksilacije u odnosu na „divlji“ genotip *CYP2C9\*1/\*1*. Za alele *CYP2C9\*2* i *CYP2C9\*3* zabilježen je 28,9% i 50,9% niži klirens u odnosu na „divlju“ varijantu enzima *CYP2C9\*1* [110]. Također je dokumentirano da je površina ispod krivulje (AUC) metabolita fenprokumona nakon oralnog unosa 12 mg fenprokumona bila značajno snižena u pojedinaца nosioca alela *CYP2C9\*2* i *CYP2C9\*3*. Za genotip *CYP2C9\*3/\*3* bile su zabilježene 10 puta veće vrijednosti metaboličkog omjera reakcije S-7-hidroksilacije u usporedbi s genotipom divljeg tipa *CYP2C9\*1/\*1*. Promijenjen opseg hidroksilacije i sniženi klirens [111], te potreba za prilagodbom doze u ispitanika s alelnim varijantama *CYP2C9* uočena je i u drugim studijama [101,112,113]. Doze održavanje fenprokumona su znatno niže u pojedinaца sa genotipom *CYP2C9\*1/\*3*, *CYP2C9\*2/\*3* i *CYP2C9\*3/\*3*, u odnosu na wt genotip [101]. Za te varijantne oblike *CYP2C9* zabilježen je i 2 do 3 puta veći rizik od krvarenja ili prekomjerne antikoagulacije [112,114,]. Nosioци kombinacije polimorfizama *CYP2C9* i *VKORC1* su imali značajno povećan rizik od prekomjerne antikoagulacije [115].

## 1.6. Antikonvulzivi

Većina antikonvulziva pokazuje veliku interindividulanu farmakokinetičku varijabilnost [116,117]. Od antiepileptika metaboličku biotransformaciju putem CYP2C9 prolaze fenitoin, fenobarbiton i valproična kiselina [118].

### 1.6.1. Fenobarbiton

Fenobarbiton je dugodjelujući (10-12 sati) barbiturat koji posjeduje antikonvulzivna, sedativna i hipnotička svojstva, te se koristi kao sedativni hipnotik i za terapiju parcijalnih i generaliziranih toničko-kloničkih napadaja [119]. Kao slaba kiselina, fenobarbiton se dobro apsorbira i ima oralnu bioraspodivnost 90%. Izlučuje se putem bubrega u nepromjenjenom obliku (25-50%), stvaranjem N-glukozida (25%), oksidacijom enzimima CYP (25%), te fazom II metabolizma. P-hidroksilacija i konjugacija su glavni metabolički putovi fenobarbitona, uključujući glukuronidaciju i sulfataciju. Glukuronid je glavni inaktivni metabolit. Enzim CYP2C9 katalizira p-hidroksilaciju, uz doprinos enzima CYP2C19. Poluvrijeme eliminacije fenobarbitona u plazmi iznosi 53 do 118 sati. Za djecu i novorođenčad iznosi 60 do 180 sati. Fenobarbiton putem nuklearnih receptora inducira mnoge enzime CYP [120,121]. Na taj način može ubrzati metabolizam drugih lijekova i time smanjiti njihovu učinkovitost. Na primjer, fenobarbiton smanjuje antikoagulacijski učinak varfarina, acenokumarola, dikumarola i fenpropumona, stoga bolesnici sa stabilnom antikoagulacijskom terapijom prilikom uzimanja ili prekidanja terapije fenobarbitonom trebaju promjenu doze. U studiji koja je uključivala bolesnike s epilepsijom zabilježeno je smanjenje ukupnog klirensa fenobarbitona za 48% kod bolesnika s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* u odnosu na nosioce genotipa *CYP2C9\*1/\*1* [122].

### 1.6.2. Fenitoin

Fenitoin (5,5-difenilhidantoin) ima uzak terapijski raspon (ukupna koncentracija: 10-20 µg/mL) i nelinearnu farmakokinetiku, stoga je potrebno učestalo praćenje koncentracija lijeka. Potrebno je smanjiti dozu fenitoina kada koncentracija fenitoina u plazmi premaši 20 µg/mL. Poluvijek fenitoina u plazmi nakon oralne primjene iznosi otprilike 22 sata, s rasponom od 7 do 42 sata. Nakon oralne primjene, veći dio lijeka se izlučuje u žuči u obliku inak-

tivnih metabolita koji se tada apsorbiraju iz probavnog traka i izlučuju putem urina [123]. Glavni put izlučivanja fenitoina putem urina je tubularna sekrecija, a u manjem dijelu glomerularna filtracija. Nakon oralne administracije nastaju 4 oksidativna metabolita; S-5-(4p-3'-hidroksifenil)-5-fenilhidantoin (4'-HPPH ili p-HPPH), 3'-HPPH, 3',4'-diHPPH i 3',4'-dihidrodiol. Približno 80 % eliminacije fenitoina se odvija putem stvaranja 4'-HPPH i njegove O-glukuronidacije [124]. Metabolit 4'-HPPH nema antikonvulzivna svojstva, ali se smatra da je odgovoran za nuspojave poput hiperplazije gingive, pospanosti, suhoće usta i općeg umora. Enzim CYP2C9 oksidira glavninu fenitoina u metabolit 4'-HPPH, dok u manjoj mjeri sudjeluje enzim CYP2C19 [125], koji katalizira stvaranje manje važnijih metabolita 3'-HPPH. Relativni udio puta CYP2C19 u metabolizmu fenitoina se povećava pri višim koncentracijama fenitoina pri kojima dolazi do zasićenosti CYP2C9. Metabolit 4'-HPPH podliježe glukuronidaciji preko različitih uridin difosfat glukuronosiltransferaza (UGT) koje uključuju UGT1A1, UGT1A4, UGT1A6 i UGT1A9. Pri tom nastaje 4'-HPPH O-glukuronid, koji je najvažniji metabolit fenitoina u urinu i plazmi (75% od ukupne doze). 4'-HPPH je racemična smjesa u kojoj dominira S-4'-HPPH enantiomer fenitoina kod ljudi, dok je R-4'-HPPH jako toksičan oblik fenitoina odgovoran za hiperplaziju gingive. Enzim CYP2C9 katalizira stvaranje pretežno S-4'-HPPH, dok enzim CYP2C19 nije stereoselektivan. 4'-HPPH O-glukuronid je također racemična smjesa, te je omjer S(+)- i R(-)-4'-HPPH O-glukuronid enantiomera u urinu 20:1. Fenitoin N-glukuronid je sporedni metabolit, također nađen u urinu bolesnika. Do 10% fenitoina se izlučuje u nepromjenjenom obliku u fecesu i do 5% u nepromjenjenom obliku u urinu [123]. U studiji na japanskoj populaciji u nosioca alela *CYP2C9\*3*, uočena je usporena eliminacije fenitoina (oko 30%) u odnosu na nosioce alela *CYP2C9\*1* [125]. Dokumentiran je 4 puta veći porast vrijednosti AUC i 21% smanjenje klirensa fenitoina kod pojedinaca homozigota za alel *CYP2C9\*3* u odnosu na divlji genotip [126]. U studiji na 499 turskih dovrovoljaca na dozi od 300 mg fenitoina, zabilježena je oko 30% niža koncentracija fenitoina u plazmi nakon 12 sati od uzimanja lijeka kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* u usporedbi s pojedincima s genotopovima *CYP2C9\*1/\*2* ili *CYP2C9\*1/\*3* (4,16 vs 5,52 vs 5,65 µg/mL) [127]. Ta razlika doprinijela je za 31% ukupnoj varijabilnosti u ostatnoj (engl. *trough*) koncentraciji fenitoina (koncentracija mjerena prije uzimanja nove doze lijeka). Ostatna koncentracija nam daje informacije o klinički učinkovitom rasponu koncentracija fenitoina, dok maksimalna koncentracija ukazuje na najvišu dozu koju bolesnik može primiti bez pojave neželjenih štetnih učinaka [128].



Srednji omjer koncentracija metabolita 4'-HPPH i fenitoina nakon 12 sati je kod ispitanika s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1 iznosio 0,43, za genotip \*1/\*2 bio je 0,26, za genotip \*1/\*3 iznosio je 0,21, za genotip \*2/\*2 iznosi je 0,14 i za ispitanike s genotipom \*3/\*3 iznosio je 0,02 [127]. Zabilježene su vrijednosti AUC fenitoina koje su bile 1,5 i 2,7 puta veće kod nosioca jedne ili dvije alelne varijante *CYP2C9* \*2 i *CYP2C9*\*3, u usporedbi s pojedincima s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1 [129]. Metabolički klirens fenitoina kojim se stvara 4'-HPPH je u značajnoj korelaciji s količinom izlučenog S-4'-HPPH i ukupnog 4'-HPPH u urinu s koncentracijom fenitoina u plazmi. Najniže i najviše vrijednosti opažene su kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1 i kod pojedinaca koji su nosioci 2 deficitna alela \*2 i \*3, dok su heterizigotni pojedinci imali vrijednost između gornje dvije. Rezultati različitih studija također ukazuju na povezanost genetičke predispozicije s dozom fenitoina. Prisustvo barem jednog alela *CYP2C9*\*2 i *CYP2C9*\*3 u korelaciji je s za trećinu nižom dozom fenitoina koja je potrebna za postizanje učinkovite koncentracije u serumu (199 vs 314 mg/dan) u bjelačkoj skupini ispitanika [130]. Pojedinci s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1, \*1/2, \*1/\*3, \*2/\*2 i \*2/\*3 trebali su 314, 193, 202, 217 i 150 mg fenitoina dnevno. U toj skupini nije bilo ispitanika s genotipom \*3/\*3. Slični rezultati zapaženi su u drugim istraživanjima [131]. S obzirom da se fenitoin metaboliizira uglavnom putem *CYP2C9*, polimorfizam *CYP2C9* utječe na terapijsku učinkovitost, toksičnost i otežava odabir doze fenitoina kod pojedinaca s varijantnim alelima kao što je uočeno u različitim studijama [132-135]. Više pojedinaca među korejskim epileptičkim bolesnicima s kožnim nupojavama fenitoina u obliku makulopapularnog osipa pripadalo je varijantnom genotipu *CYP2C9*\*1/\*3, u odnosu na kontrolnu skupinu bez nuspojava [135]. Studije su izvijestile o povezanosti alela *CYP2C9*\*3 s povećanim rizikom razvoja neurotoksičnosti potaknute fenitoinom [133].

### 1.6.3. Valproična kiselina

Valproična kiselina (2-propilpentanska kiselina) je antikonvulzivno sredstvo u širokoj primjeni. Također se koristi u liječenju neuroloških i psihijatrijskih poremećaja poput bipolarnog afektivnog poremećaja i migrene [136]. Valproat se u potpunosti metabolizira u jetrima. Kod odraslih bolesnika na monoterapiji valproičnom kiselinom, 30-50% uzete doze izlučuje se u urinu kao glukuronid. Mitohondrijska β-oksidacija je još jedan važan metabolički put, kojim se metabolizira više od 40% doze. Manje od 15-20% lijeka eliminira se ostalim oksidativnim putovima, dok se manje od 3% doze nepromjenjeno izlučuje urinom. Stoga,

valproična kiselina se najvećim dijelom metabolizira putem mikrosomalne glukuronidacije i mitohondrijske  $\beta$ -oksidacije, dok je  $\omega$ -oksidacija ovisna o CYP-u sporedni metabolički put.  $\omega$ -oksidacija se smatra važnim putem bioaktivacije, a rezultira stvaranjem metabolita 2-propil-4-pentanske kiseline (4-en-valproična kiselina), koja je puno snažniji hepatotoksin nego sama valproična kiselina. Enzim CYP2A6 je također uključen u metabolizam valproične kiseline, s značajnim doprinosom enzima CYP2B6 i CYP2C9 [137]. Rezultirajući reaktivni metabolit, 4-en-valproična kiselina je hepatotoksična. Stvaranje 4-en-valproične kiseline je još potaknuto koadministracijom fenitoina i karbamazepina (induktori enzima CYP), a inhibirano stiripentolom, metilendioksifenil derivatom [138]. 4-en-valproična kiselina može biti transformirana u koenzim A (CoA), te oksidirana do 2,4,-dien-valproat-CoA oblika [139,140]. Nakon oralne administracije doze od 250 do 1000 mg, prosječno poluvrijeme eliminacije pri monoterapiji valproatom iznosi 9-16 sati. Studija na populaciji 287 kineskih bolesnika s epilepsijom na monoterapiji valproičnom kiselinom, otkrila je da genotipovi *CYP2C9* i *CYP2C19* značajno utječu na farmakokinetičku varijabilnost [141]. Autori su zaključili da korištenje nalaza genotipizacije značajno poboljšana preciznost u predviđanju željene koncentracije u odnosu na modele koji su koristili samo biološke parametre (težina bolesnika, dob, oblik lijeka). U drugoj studiji, ispitanici, heterozigoti za alel *CYP2C9*\*3, su imali više koncentracije valproične kiseline u plazmi u odnosu na ispitanike s divljim genotipom [142].

## 1.7. Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAR)

Tradicionalni nesteroidni protuupalni lijekovi imaju analgetski, antipiretski i protuupalni učinak. Najvažniji korak u metabolizmu je acetilglukuronidacija svih nesteroidnih protuupalnih lijekova koji sadrže karboksilnu skupinu: naproksen, ibuprofen, ketoprofen, indometacin i diklofenak. Glavni glukuronidacijski enzim je UGT1A1 uz doprinos drugih enzima UGT poput UGT1A9, UGT2B4 i UGT2B7 [143-147]. Enzim CYP2C9 metabolizira neke protuupalne lijekove, među kojima su acetilsalicilna kiselina (aspirin), diklofenak, ibuprofen, etodolak, suprofen, piroprofen, zaltoprofen, naproksen, flurbiprofen, mefenamična kiselina, indometacin, meloksikam, piroksikam, tenoksikam i lornoksikam [148,149]. Doprinos enzima CYP2C9 ukupnom klirensu ovih lijekova je varijabilan. Također ni rezultati o povezanosti s nuspojavama nisu jednoznačni [150].

### 1.7.1. Celekoksib

Celekoksib je snažan selektivni inhibitor COX2, te se koristi za liječenje reumatoidnog artritisa i osteoartritisa [151]. Dobro se apsorbira i skoro u potpunosti metabolizira, a samo oko 3% ukupne doze se u nepromjenjenom obliku izlučuje urinom ili fecesom. Najvažniji metabolički put celekoksiba je hidroksilacija u ljudskim jetrenim mikrosomima, pri čemu je CYP2C9 glavni katalitički enzim (72-92%), uz manji doprinos enzima CYP3A4 (25%) [152]. Metilhidroksi celekoksib se dalje oksidira do pripadajućeg karboksi-celekoksiba preko citosolnih ADH1 i ADH2, pa se čak 86% doze izlučuje u urinu u obliku metilhidroksi- i karboksi-celekoksiba [153]. Karboksi-celekoksib je daljnji supstrat za konjugaciju s glukuronskom kiselinom, te se izlučuje putem žuči. Ti su metaboliti inaktivni, i nisu inhibitori COX1 i COX2. Studije su dokazale utjecaj polimorfnih varijanti CYP2C9 na farmakokinetičke parametre celekoksiba. Tako je u studiji u kojoj su ispitanici bili na dozi od 200 mg, uočeno povećanje vrijednosti AUC celekoksiba za 2,2 puta kod ispitanika nosioca alela *CYP2C9\*3* u usporedbi s ispitanicima s genotipom *\*1/\*1* [154]. Za alel *CYP2C9\*2* razlike u vrijednosti AUC nisu bile statistički značajne. U drugoj studiji za fenotip sporih metabolizatora CYP2C9 zabilježene su 2 puta veće vrijednosti AUC celekoksiba u odnosu na srednje vrijednosti AUC brzih metabolizatora, uz istu dozu od 200 mg celekoksiba (12 561 vs 6246 µg/L na sat) [155]. U farmakokinetičkoj studiji heterozigotni i homozigotni nosioci alela *CYP2C9\*3* su imali 1,5 i 3 puta veću vrijednost AUC celekoksiba [156]. Također je kod heterozigota i homozigota za

alel *CYP2C9\*3* uočena smanjena koncentracija metabolita celekoksiba, metilhidroksi- i karboksi-celekoksiba, dok alel *CYP2C9\*2* nije utjecao na farmakokinetičke parametrike. Opisan je i slučaj djeteta, homozigotnog nosioca alela *CYP2C9\*3* koji je imao 10 puta veću vrijednost AUC celekoksiba, u usporedbi s brzim metabolizatorima s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* [157]. Te vrijednosti svakako povećavaju rizik nastanka nuspojava celekoksiba. U drugoj studiji sa stabilnim koncentracijama celekoksiba, pojedinci s genotipom *CYP2C9\*3/\*3* imali su 7 puta veću vrijednost AUC u usporedbi s pojedincima s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* ili genotipom *CYP2C9\*1/\*1* [158].

### 1.7.2. Diklofenak

Diklofenak je protuupalni nesteroidni lijek koji smanjuje upalu, te kao analgetik smanjuje bol u stanjima poput artritisa, gihta, postoperativnim i posttraumatskim te menstrualnim bolovima. Snažan je inhibitor COX1 i COX2. Diklofenak se gotovo u potpunosti metabolizira. Pet metabolita diklofenaka je pronađeno u urinu i plazmi, 4'-hidroksi-, 5-hidroksi-, 3'-hidroksi-, 4',5-dihidroksi, 3'-hidroksi-4'-metoksi diklofenak. Enzim CYP2C9 prvenstveno katalizira 4'-hidroksilaciju diklofenaka, dok CYP3A4 sudjeluje u manjoj mjeri [159]. CYP2C9 također katalizira 3'-hidroksilaciju diklofenaka te stvaranje 3'-hidroksi-4'-metoksi-diklofenaka. Čini se da CYP3A4 prvenstveno katalizira 5'-hidroksilaciju, dok u manjoj mjeri doprinose CYP2C19, CYP2C8 i CYP2C18. Nastali hidroksilirani metaboliti podliježu dalje glukuronidaciji enzimima UGT1A1, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B7, UGT2B15, te sulfataciji, nakon čega slijedi izlučivanje metabolita putem žuči. Metabolit 4'-OH diklofenak ima slabo farmakološko djelovanje. Oko 65% doze se izlučuje putem urina, dok se 35% doze izlučuje u žuči u obliku konjugata, metabolita I faze i u nepromjenjenom obliku. Studije u utjecaju polimorfizama CYP2C9 na farmakokinetičke parametre diklofenaka ne iznose jednoznačne rezultate. I dok je u nekima zabilježena povezanost nižih vrijednosti klirensa diklofenaka s varijantama *CYP2C9\*3* [160], drugi to nisu potvrdili [161]. Studija na 10 zdravih ispitanika koji su uzimali pojedinačnu dozu od 50 mg diklofenaka, nije našla povezanost genotipova *CYP2C9\*1/\*2*, *\*1/\*3*, *\*2/\*2*, *\*2/\*3* i *\*3/\*3* sa farmakokinetičkim parametrima diklofenaka ( $C_{max}$ , AUC,  $t_{1/2\beta}$  i klirens) u usporedbi divljim genotipom *\*1/\*1* [162]. U studiji na jetrenim mikrosomima, s različitim genotipom *CYP2C9*, određivanjem nastalih metabolita 4'-OH-diklofenaka nisu utvrđene razlike u vrijednostima  $K_m$  ili  $V_{max}$  u odnosu na genotip, premda je u uzorku s genotipom *CYP2C9\*3/\*3* zabilježena niža vrijednost  $V_{max}$  za reakciju 4'-

hidroksilacije diklofenaka (156 pmol/min/mg proteina) i ta vrijednost je bila 6,2 puta niža u odnosu na srednju vrijednost za uzorke ispitanika s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1 (967 pmol/min/mg proteina).  $K_m$  je za genotip \*3/\*3 bila 4,6 puta niža u odnosu za vrijednosti  $K_m$  donora s\*1/\*1 genotipom. Aithal i suradnici [163] su dobili potpuno drugačije rezultate, te su kod donora s genotipom *CYP2C9*\*1/\*3 uočili 5 puta nižu vrijednost  $V_{max}$  za reakciju 4'-hidroksilacije diklofenaka s obzirom na srednju vrijednost donora s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1. Nadalje, nisu uočili povezanost omjera koncentracije diklofenaka i 4'-OH diklofenaka, te omjera koncentracije losartana i metabolita E-3174 u plazmi i urinu. Štoviše, unutar skupine s istim genotipom *CYP2C9*, je uočena čak i do 20 puta varijabilnost u farmakokinetici diklofenaka. Ta otkrića ukazuju da je 4'-OH hidroksilacija diklofenaka pod većim utjecajem drugih čimbenika nego genotipa *CYP2C9*. Inhibicija COX1 i COX2 diklofenakom koja je određena mjerenjem nastalog tromboksana B2 i prostaglandina E2, nije bila različita u nosiocima različitih genotipova *CYP2C9* [164], pa se zaključuje da polimorfizma *CYP2C9* nema učinak na farmakodinamiku diklofenaka.

Rezultati studije Dorada i suradnika [165] na 102 zdrava španjolska ispitanika, ukazuju da je omjer koncentracija diklofenaka i 4'-OH diklofenaka u urinu bio povezan s genotipom *CYP2C9*, dok omjeri koncentracija diklofenaka i 3'-OH diklofenaka, te diklofenaka i 5-OH diklofenaka urinu nisu bili povezani s genotipom *CYP2C9*. Omjer koncentracije diklofenaka i 4'-OH diklofenaka je bio značajno povećan kod ispitanika s genotipom *CYP2C9*\*1/\*3, te kod ispitanika s genotipom *CYP2C9*\*2/\*3, u usporedbi s ispitanicima s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1 i čak 3 puta veći kod ispitanika, homozigota za alel *CYP2C9*\*3 [166]. Ova studija je ukazala na povezanost alela *CYP2C9*\*3 (ne i alela *CYP2C9*\*2) i reakcije 4'-hidroksilacije diklofenaka. Autori ističu da upravo taj metabolički korak najviše ovisi o genotipu *CYP2C9*, dok je manje značajan za 3'- i 5-hidroksilaciju. U istraživanju utjecaja genotipova *CYP2C9* i *CYP2C8* na 5-hidroksilaciju diklofenaka omjer koncentracija diklofenak i 5-hidroksi diklofenaka u urinu je bio veći kod pojedinaca koji su imali barem jedan alel *CYP2C8*\*3 ili *CYP2C8*\*4, u odnosu na nosioce alela divljeg tipa \*1. Nadalje, 93% ispitanika koji su imali alel *CYP2C8*\*3 su također imali i alel *CYP2C9*\*2, te 80% ispitanika koji su imali alel *CYP2C9*\*2 su imali i alel *CYP2C8*\*3. Nadovezujući se na gornje statistike, 4 ispitanika s genotipom *CYP2C9*\*2/\*2 su također bili nosioci i genotipa *CYP2C8*\*3/\*3. Iako postoji vezna neravnoteža između alelnih varijanta *CYP2C8*\*3 i *CYP2C9*\*2, nije pronađena poveznica između genotipa *CYP2C9* i omjera koncentracije diklofenaka i 5-OH-diklofenaka.

### 1.7.3. Ibuprofen

Ibuprofen je najčešće korišten nesteroidni protuupalni lijek, derivat arilpropionske kiseline, te inhibira i COX1 i COX2. Čini se da ibuprofen svoj analgetski, antipiretski i protuupalni učinak posjeduje zbog inhibicije prvenstveno COX2, dok inhibicija COX1 dovodi do neželjenih učinaka na agregaciju trombocita i na gastrointestinalni sustav [167]. Najvažniji metabolički put ibuprofena je oksidacija (70%), dok je konjugacija sporedni put i pridonosi metabolizmu oko 10%. Ibuprofen je zapravo racemična smjesa, te je S-ibuprofen prvenstveno odgovoran za COX inhibiciju. Nakon oralno uzete doze racemičnog ibuprofena, oko 60% doze se izluči putem urina tijekom 24 sata u obliku metabolita 2-hidroksi-ibuprofena, 3-karboksi-ibuprofena i njihovih konjugata. Enzimi CYP2C8 i CYP2C9 prvenstveno kataliziraju reakcije 2- i 3-hidroksilacije ibuprofena, te su enantiomerno-selektivni, dok enzimi UGT1A1, UGT1A3, UGT1A9, UGT2B4 i UGT2B7 kataliziraju reakcije glukuronidacije ibuprofena [145]. R-ibuprofen se hidroksilira na poziciji 2 i 3 enzimima CYP2C8 i CYP2C9, te nastaju R-2-OH-ibuprofen i 2 diastereoizomera 3-OH-ibuprofena iz kojih nastaju R,S- i R,R-OH-ibuprofen. Oksidacijom S-ibuprofena na poziciji 2 i 3 nastaju metaboliti S-2-OH-ibuprofen, S,S-3-OH-ibuprofen i S,R-3-OH-ibuprofen. Enzim CYP2C9 prvenstveno katalizira 2- i 3-hidroksilaciju S-ibuprofena, dok enzim CYP2C8 katalizira 2-hidroksilaciju R-ibuprofena. 3-OH-ibuprofen *in vivo* se dalje dehidrogenizira do 3-karboksi-ibuprofena. Istraživanja su pokazala da enzim CYP2C8 igra manju ulogu u klirensu R-ibuprofena (10%) i klirensu S-ibuprofena (oko 13%) [168]. Stoga genotip *CYP2C8* i inhibicija enzima CYP2C8 značajnije ne utječe na klirens enantiomera ibuprofena. Nekoliko kliničkih studija dokazalo je da polimorfizam *CYP2C9* utječe na vrijednosti AUC ibuprofena u plazmi [169-171]. U studiji na 21 zdravom dobrovoljcu, na dozi od 600 mg racemičnog ibuprofena, ispitivao se utjecaj polimorfizma *CYP2C9* na farmakokinetiku ibuprofena i inhibiciju COX1 i COX2 [169]. Vrijednosti AUC racemičnog ibuprofena su bile 1,6 i 1,8 puta veće kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9*\*1/\*3 i \*3/\*3, u odnosu na ispitanike s genotipom \*1/\*1, a razlog tome je povećana koncentracija S-ibuprofena u plazmi. Klirens S-ibuprofena nakon oralne administracije iznosio je 3,25 L/sat za ispitanike s genotipom \*1/\*1, 2,38 L/sat za ispitanike s genotipom \*1/\*3, te 1,52 L/sat za ispitanike s genotipom \*3/\*3, dok funkcionalna varijanta alela *CYP2C9*\*2 nije imala značajnijeg utjecaja. Nadalje, mjerenjem tromboksana B<sub>2</sub> i prostaglandina E<sub>2</sub> koji ukazuju na domet inhibicije COX1 i COX2, utvrđeno je da genotip *CYP2C9* ima jak utjecaj. U još jednoj studiji [171] u kojoj je sudjelovalo 130 zdravih pojedinaca koji su dobivali 400 mg racemične smjese ibuprofena, istraživan je utjecaj *CYP2C9* i *CYP2C8* na farmakokinetiku

ibuprofena. Klirens oralno uzetog ibuprofena iznosio je 4,43 L/sat za ispitanike s genotipom  $*1/*1$ , 3,26 L/sat za ispitanike s genotipom  $*1/*2$ , 2,91 L/sat za ispitanike s genotipom  $*1/*3$ , 2,05 L/sat za ispitanike s genotipom  $*2/*2$ , 1,83 L/sat za ispitanike s genotipom  $*2/*3$ , 1,13 L/sat za ispitanike s genotipom  $*3/*3$ . Na klirens S-ibuprofena najveći utjecaj imale su funkcionalne varijante alela  $CYP2C8*3$  i  $CYP2C9*3$ . Niži klirens je bio povezan s prisutnošću alela  $CYP2C9*2$  jedino uz prisutnost alela  $CYP2C8*3$  [171]. U usporedbi s ispitanicima s divljim tipom genotipa, ispitanici s genotipom  $CYP2C8*1/*3$  i  $CYP2C9*1/*2$  (19% populacije) imaju niži klirens ibuprofena. Ispitanici koji su homozigoti ili dvostruki heterozigoti funkcionalnih alelnih varijanata  $CYP2C8*3$  i  $CYP2C9*3$  (8% populacije) su imali značajno niži klirens ibuprofena, s vrijednostima u rasponu od 7% do 27% srednjeg klirensa ispitanika s divljim tipom genotipa. Nije uočeno enantiomer-specifično smanjenje klirensa ibuprofena. Izneseni rezultati pokazuju da polimorfizmi  $CYP2C8$  i  $CYP2C9$  utječu na klirens ibuprofena. U studiji na 25 zdravih dobrovoljaca, nije zapažena značajna razlika u farmakokinetici R-ibuprofena između nosioca i onih koji nisu imali funkcionalnu varijantu alela  $CYP2C9*2$  [170]. Međutim, opaženo je da alelna varijanta  $CYP2C9*3$  utječe na farmakokinetiku R-ibuprofena. Nakon uzimanja doze od 400 mg ibuprofena, poluvrijeme eliminacije u plazmi  $t_{1/2\beta}$  za ispitanike s genotipom  $CYP2C8*1/*1$ ,  $CYP2C8*1/*3$  i  $CYP2C8*3/*3$  iznosilo je 2,0, 4,2 i 9,0 sati. Prisutnost barem jednog alela  $CYP2C9*3$  koji je u veznoj neravnoteži s alelom  $CYP2C8*3$  je bila povezana s 1,7 i 1,8 većim vrijednostima AUC R-ibuprofena, nego u ispitanika bez alela  $CYP2C9*3$  [170]. Ovi rezultati ukazuju da je polimorfizam  $CYP2C8$  važan parametar u modulaciji farmakokinetike R-ibuprofena. S obzirom da prisutnost funkcionalne varijante alela  $CYP2C8*3$  također u većini slučajeva znači i prisutnost alela  $CYP2C9*2$ , može se zaključiti da kombinacija polimorfizama oba genotipa utječe na farmakokinetiku R-ibuprofena. Međutim, daljnja istraživanja na dovoljno velikom broju ispitanika s različitim kombinacijama genotipova  $CYP2C8$  i  $CYP2C9$  trebaju razjasniti i otkriti utjecaj funkcionalne varijante alela  $CYP2C9*2$  na smanjenje metabolizma ibuprofena. U studiji u kojoj je sudjelovalo 69 zdravih španjolskih dobrovoljaca, otkriveno je da su ispitanici, nosioci alelne varijante  $CYP2C9*3$ , imali smanjeni metabolizam racemičnog ibuprofena, te 30% smanjenje AUC i 30% niži klirens u usporedbi s ispitanicima s divljim tipom alela  $CYP2C9*1$  [172]. U usporedbi s ispitanicima nosiocima alela  $CYP2C9*1$ , prisutnost alela  $CYP2C9*3$  utječe na 45 %-tno smanjenje klirensa S-ibuprofena, povećanje vrijednosti za 87% i 47% AUC i  $t_{1/2\beta}$  S-ibuprofena, te za 30% smanjenje klirensa R-ibuprofena. Rezultati pokazuju da nosioci alela  $CYP2C9*3$  imaju različiti metabolizam R- i S-ibuprofena.

#### 1.7.4. Naproksen

Naproksen je derivat arilacetilne kiseline. Koristi se u liječenju osteoartritisa, reumatoidnog artritisa, psorijatičnog artritisa, gihta, ankilozantnog spondilitisa i menstrualnih bolova [173]. Nakon oralne administracije lijeka, većina doze (oko 60%) se izlučuje u obliku konjugata direktnom glukuronidacijom. Kod ljudi enzimi UGT1A3, UGT1A9 i UGT2B7 kataliziraju reakcije glukuronidacije naproksena [145]. Naproksen podliježe reakciji oksidacije pri čemu nastaje 6-O-dezmetilnaproksen koji je inaktivni metabolit i koji dalje podliježe reakcijama glukuronidacije i sulfatacije [174]. Enzimi CYP2C9, CYP2C8 i CYP1A2 sudjeluju u 6-O-demetilaciji naproksena, pri čemu CYP2C9 ima 4 puta veću aktivnost stvaranja metabolita 6-O-dezmetilnaproksena od enzima CYP1A2 [175]. Bae i suradnici [261] su istraživali utjecaj polimorfizma *CYP2C9* na farmakokinetiku naproksena na skupini od 20 zdravih korejskih ispitanika koji su uzimali 275 mg naproksena na dan. Nisu zabilježili značajnije razlike u vrijednosti AUC naproksena i oralnog klirensa naproksena između ispitanika nosioca genotipa *CYP2C9\*1/\*3* (n=6) i ispitanika nosioca genotipa *CYP2C9\*1/\*1* (n=14). Za ispitanike s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* su zabilježene vrijednosti AUC i oralnog klirensa naproksena 769,93 µg/mL/sat i 0,337 L/sat, dok su za ispitanike s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* vrijednosti iznosile 750,68 µg/mL/sat i 0,383 L/sat. Poluvrijeme eliminacije  $t_{1/2\beta}$  za ispitanike s genotipom *\*1/\*3* je iznosilo 17,64 sati, a za ispitanike s genotipom *\*1/\*1* je bilo 17,86 sati. Zaključeno je da genetički polimorfizam *CYP2C9* ne utječe značajno na farmakokinetiku naproksena, što se objašnjava manjim doprinosom enzima CYP2C9 metaboličkom klirensu naproksena. Važnu ulogu u metabolizmu naproksena *in vivo* mogu imati polimorfni enzimi CYP2C8, CYP1A2, UGT1A3, UGT1A9, UGT2B7.

#### 1.7.5. Piroksikam

Metabolizam piroksikama se odvija preko tri puta: a) konjugacija piridinskog straničnog prstena na 5'-položaju, te konjugacija nastalog metabolita; b) dehidracija cikličkog prstena; c) niz reakcija koje uključuju hidrolizu amidne veze, dekarboksilaciju i N-demetilaciju. Piroksikam se kao i lornoksikam najvećim dijelom hidroksilira enzimom CYP2C9 [177], koji ima važnu ulogu u 5'-hidroksilaciji piroksikama [250]. 5'-hidroksi-piroksikam je glavni metabolit, te se tim putem izluči oko 60% doze. Omjer  $k_{cam}$  i  $K_{max}$  *in vitro* za 5'-hidroksi-piroksikam je značajno smanjen (>90%) kod ispitanika nosica alela *CYP2C9\*3* [262]. Omjer  $k_{cam}$  i  $K_{max}$  za reakciju nastajanja 5'-hidroksi-piroksikama je značaj-



no smanjen (>90%) kod nosioca alela *CYP2C9\*3* [178]. Jedna studija s jednokratnim dnevnim dozama pokazala je da je oralni klirens piroksikama smanjen, te je povećan inhibitorni učinak na COX1 mjerenjem nastalog TXB<sub>2</sub> kod ispitanika s genotipom *CYP2C9\*1/\*2* ili *CYP2C9\*1/\*3* u usporedbi s pojedincima s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* [179].

#### 1.7.6. Tenoksikam

Tenoksikam se gotovo u potpunosti apsorbira nakon oralne administracije, te srednje poluvrijeme eliminacije iznosi 72 sata (32-110 sati). Kao i kod lornoksikama, enzim CYP2C9 većinom hidroksilira tenoksikam [177]. Otprilike 2/3 oralno uzete doze od 40 mg tenoksikama se izlučuje putem urina u obliku inaktivnog metabolita 5'-hidroksi-tenoksikama (20-30%). Samo mali dio se izlučuje u nepromjenjenom obliku (0,5%) u urinu. Enzim CYP2C9 igra važnu ulogu u 5'-hidroksilaciji tenoksikama. Podaci dobiveni pokusima *in vitro* jasno pokazuju da enzim CYP2C9 ponajviše katalizira 5'-hidroksilaciju tenoksikama (oko 80%), dok se alelna varijanta *CYP2C9\*3* povezuje sa smanjenom katalitičkom aktivnosti enzima [177]. U zdravih ispitanika pri jednakoj dozi tenoksikama uočene su povišene koncentracije tenoksikama kod ispitanika nosica alela *CYP2C9\*3*, u odnosu na ispitanike nosioce alela *CYP2C9\*1* ili *CYP2C9\*2* (256 vs 150 vs 169 µg/mL na sat) [180]. Poluvrijeme eliminacije kod ispitanika heterozigita za alel *CYP2C9\*3*, *CYP2C9\*2* i *CYP2C9\*1* je bilo 102, 64 i 56 sati za svaki

## 1.8. Blokatori receptora angiotenzina II

Antagonisti angiotenzina II tj. blokatori receptora angiotenzina II specifično se vežu i blokiraju angiotenzin II receptore ( $AT_1$ ) te se koriste u liječenju hipertenzije kod bolesnika koji su otporni na ACE II inhibitore. Kandesartan, eprosartan, irbesartan, losartan, telmisartan i valsartan se koriste za kliničko liječenje. Zajedničko kandesartanu, losartanu, irbesartanu i valsartanu je tetrazolbifenilna struktura, dok svi aktivni inhibitori receptora angiotenzina II osim irbesartana imaju karboksilnu skupinu. Kandesartan cileksetil je prolijek dok losartan ima metabolit (E-3174) koji je znatno aktivniji u odnosu na izvorni lijek [181]. Niti jedan drugi metabolit sartana ne pridonosi značajnijem antihipertenzivnom učinku. Različita kemijska struktura sartana rezultira razlikama u farmakokinetičkim svojstvima i afinitetu vezanja na  $AT_1$ . Enzim CYP2C9 metabolizira većinu sartana, ali njegov udio u metabolizmu varira. Losartan se kao prolijek pretvara u svoj farmakološki aktivan metabolit E-3174 najvećim dijelom pomoću enzima CYP2C9 [182,183], a jedan od metabolita irbesartana kataliziran pomoću CYP2C9 ima nisku farmakološku aktivnost [184]. Približno 6% doze irbesartana se metabolizira putem CYP2C9 i pretvara u glukuronide pri čemu nastaje 8 neaktivnih metabolita (M1-M8) [185]. Kandesartan i valsartan se metaboliziraju pomoću CYP2C9 do farmakološki inaktivnih metabolita [186]. Telmisartan i olmesartan nisu supstrati enzima CYP, uključujući CYP2C9. Telmisartan se djelomično metabolizira glukuronidacijom [187], a 35-50% doze olmesartana se izlučuje nepromjenjeno iz organizma.

### 1.8.1. Kandesartan

Kandesartan je dugodjelujući, selektivni i kompetitivni antagonist  $AT_1$ -receptora koji se koristi u liječenju hipertenzije i kongestivnog zatajenja srca [188,189]. Farmakokinetika kandesartan cileksila (racemični esterski prolijek) je linearna kod doze od 8-32 mg. U crijevnoj stijenci kandesartan se oslobađa iz racemičnog esterskog prolijeka (kandesartan cileksetil) predsistemskom hidrolizom. Bioraspoloživost kandesartana iznosi oko 15%. Što se tiče oralne doze, kandesartan se prvenstveno izlučuje u nepromjenjenom obliku (75%) u urinu (33%) i u stolici (67%) [190], a manji se dio inaktivira putem O-deetilacije jetrenim enzimom CYP2C9, u inaktivni metabolit CV-15959. Poluvijek eliminacije kandesartana je oko 9 sati. Genotip s alelom *CYP2C9\*3* smanjuje metabolizam kandesartana *in vivo* i *in vitro*. Nosioci *CYP2C9\*3* imaju 27,2 % viši  $K_m$  i 2,1 puta manji  $V_{max}$  u odnosu na *CYP2C9\*1* [191].

Opisan je slučaj 89-godišnjaka s kroničnom hipertenzijom koji je pri dozi 4 mg kandesartana dnevno, razvio hipotenziju uz jaku vrtoglavicu [192]. Analiza koncentracije lijeka utvrdila je 2,5 puta veću površinu ispod krivulje (AUC), te za 48% produžen klirens kandesartana u odnosu na prosječne vrijednosti u populaciji. Analizom je utvrđeno da je bolesnik nosioc genotipa *CYP2C9* \*1/\*3 koji je mogao biti odgovoran za usporen klirens i povišene koncentracije kandesartana u plazmi. Bolesnik je potom dobro podnio losartan [192]. Različiti odgovor bolesnika na kandesartan i losartan se može objasniti činjenicom da *CYP2C9* aktivira losartan u aktivne oblike E-3174 [182,183,193,194], dok polimorfni enzim *CYP2C9* inaktivira kandesartan do inaktivnih metabolita CV-15959 [191]. Stoga su se pri primjeni prosječnih doza losartana mogle očekivati umjerene koncentracija E-3174 u plazmi.

### 1.8.2. Irbesartan

Irbesartan je dugodjelujući, specifični i kompetitivni antagonist receptora AT<sub>1</sub> [195]. Nije prolijek a oralna bioraspodivnost iznosi 60-80 %. U terapijskom rasponu irbesartan ima linearnu farmakokinetiku, s poluvijekom izlučivanja  $t_{1/2\beta}$  od 11-15 sati. Irbesartan podliježe N-glukuronidaciji [196] a primarni cirkulirajući metabolit (oko 6% ukupne doze) čini inaktivni glukuronid. Drugi važan metabolički put irbesartana je oksidacija pri kojoj nastaju mono- i di-hidroksilirani metaboliti. Oni dalje podliježu hidrosilaciji do keto, hidroksi-keto i karboksilnih metabolita [185]. Nakon oralne administracije irbesartana identificirano je 8 metabolita u ljudskom urinu [185]. Manje važan metabolički put u ljudi je N-dealkilacija. U urinu, irbesartan i njegovi metaboliti čine svaki pojedinačno 5-10% radioaktivnosti urina. ω-1 hidroksilirani metabolit je glavni metabolit u urinu, te čini 25% radioaktivnosti urina. U fecesu, irbesartan je bio glavna komponenta (30% ukupne radioaktivnosti), a primarni su monohidroksilirani metaboliti i metaboliti karboksilne kiseline. *CYP2C9* *in vitro* pretežno katalizira oksidaciju irbesartana, dok je doprinos *CYP3A4* neznatan [184]. M3, jedan od važnijih metabolita irbesartana u krvi (čin 9% radioaktivnosti tijekom 6 sati u plazmi), bio je više od 1,000 puta slabiji inhibitor AT<sub>1</sub> receptora u odnosu na irbesartan. In vivo, u stanju ravnoteže, flukonazol je povećao C<sub>max</sub> irbesartana za 19% i AUC za 63%, [196]. Bolesnici s hipertenzijom nosioci genotipa *CYP2C9*\*1/\*2 su imali veći pad vrijednosti dijastoličkog krvnog tlaka u odnosu na bolesnike s genotipom divljeg tipa, s trendom smanjivanja vrijednosti prvenstveno sistoličkog krvnog tlaka [197]. Studija na 711 bolesnika s hipertenzijom, koji su liječeni dnevnom dozom od 150 mg irbesartana tijekom 28 dana, utvrdila je da su nosioci alela *CYP2C9*\*3 imali zna-

čajnu višu koncentraciju irbesartana u plazmi nakon 6 sati i 24 sata, dok nije nađena značajnija poveznica između nosioca alela *CYP2C9*\*3 i terapijskog odgovora na irbesartan [198]. U drugoj studiji, pojedinci s genotipom *CYP2C9*\*1/\*3 su imali značajno više koncentracije irbesartana u plazmi i veći pad dijastoličkog tlaka u odnosu na bolesnike s genotipom \*1/\*1 [44]. Studija u kojoj su sudjelovala 62 pacijenta nije našla poveznicu između varijanti *CYP2C9* i terapijskog učinka irbesartana [199]. Zaključujemo da su studije dokazale povezanost genotipa *CYP2C9* sa klirensom irbesartana, dok veza s djelotvornosti lijeka nije potvrđena.

### 1.8.3. Losartan

Losartan je prvi selektivni antagonist receptora AT<sub>1</sub> korišten u terapiji hipertenzije i kongestivnog zatajenja srca [46]. Oralna bioraspodivnost losartana nije visoka, oko 33%, ponajviše zbog značajnog metabolizma pri prvom prolasku kroz jetra. Enzim *CYP2C9* prvenstveno metabolizira losartan putem aldehidnog intermedijara (E-3179) do kiselog 5-karboksilnog metabolita (E-3174), uz značajan doprinos i enzima *CYP3A4* [183,194]. Enzimi *CYP2C9* i *CYP3A4* oksidiraju losartan i njegov aldehid E-3179 (uglavnom inaktivan) do karboksilne kiseline E-3174. E-3174 je farmakološki aktivniji oblik s 10 do 40 puta jačim afinitetom za receptor AT<sub>1</sub> u odnosu na izvorni lijek, a djeluje kao reverzibilni i nekompetitivni inhibitori s duljim  $t_{1/2\beta}$  (6,3 vs 2,1 sati) [200,201]. Iako se samo 14% doze losartana metabolizira u E-3174, površina ispod krivulje (AUC) E-3174 je 4 do 8 puta veća nego kod losartana. Smatra se da E-3174 najviše doprinosi antagonističkom učinku na AT<sub>1</sub> receptor. E-3174 ima 3 puta dulje poluvrijeme eliminacije nego losartan [200,201]. Od oralno primjenjene doze losartana fecesom se izluči oko 65% a urinom oko 35% [202]. Nakon intravenske primjene <sup>14</sup>C-obilježenog losartana, u urinu je izmjereno oko 45% a u fecesu oko 50% radioaktivnosti. Flukonazol, inhibitor enzima *CYP2C9*, smanjio je AUC i C<sub>max</sub> metabolita E-3174 u plazmi za 43% i 56% , te je povećao AUC i C<sub>max</sub> losartana za 60% i 30% [203]. Nasuprot, ketokonazol (inhibitor *CYP3A4*), nije utjecao na pretvorbu losartana u E-3174, nakon intravenozne primjene losartana, a eritromicin (inhibitor *CYP3A4*) nije pokazao klinički značajniji učinak na metabolizam losartana [204]. Rifampicin je smanjio AUC losartana za 35% i AUC E-3174 za 40%. Iz objavljenih podataka se može zaključiti da je *CYP2C9* najvažniji enzim za oksidativnu pretvorbu losartana u metabolit E-3174. U studiji s jediničnom dozom u bijelačkoj populaciji, nosioci alela *CYP2C9*\*3, imali su značajno smanjene razine E-3174 u plazmi, pri čemu su homozigoti za alel *CYP2C9*\*3 pretvorili manje od 1% ukupne doze losar-

tana u E-3174 metabolit [205]. Homozigoti i heterozigoti za alel *CYP2C9*\*3 imali su značajno niži AUC (7-50%) u odnosu na „divlji“ genotip. Za alel *CYP2C9*\*2 ta razlika nije bila značajna. Međutim druge studije nisu potvrdile niže vrijednosti AUC za E-3174 u nosioca genotipa *CYP2C9*\*3\*3 [206,207]. Neke su našle povezanost lošijeg terapijskog učinka losartana (viši krvni tlak) s genotipom \*1/\*3 [201]. Pojedinci s genotipom *CYP2C9*\*1/\*3 su imali 1,6 puta veću vrijednosti AUC losartana u odnosu na nosioce divljeg genotipa [207]. U drugoj studiji su pojedinci s genotipom *CYP2C9* \*1/\*2 imali 3,0 puta veću vrijednost AUC losartana nego pojedinci s divljim genotipom [208]. Međutim druge studije [205,206] nisu ustanovile niti jednu poveznicu s AUC losartana te njegovim klirensom. Čini se da polimorfizmi *CYP2C9* imaju malen do umjeren utjecaj na koncentraciju losartana vjerojatno zbog činjenice što je u njegovu oksidaciju uključen i enzim *CYP3A4*, čija uloga postaje značajnija pri visokim koncentracijama losartana (>25μM) [183,194].

## 1.9. Antidijabetici

Oralni hipoglikemici su lijekovi koji se koriste kao alternativa u liječenju dijabetesa tipa 2 koji nije reagirao na dijetu, tjelovježbu i smanjenje tjelesne težine. Postoje različite vrste oralnih hipoglikemika koji se koriste, a najčešće se koriste sulfonilureje i bigvanidi. [209,210]. Liječenje dijabetesa oralnim antidijabeticima karakterizira značajna interindividuelna varijabilnost što se tiče farmakokinetike, kliničkog učinka i nuspojava [210]. Sulfonilureje, uključujući tolbutamid, gliburid (glibenklamid), glimepirid i glipizid, te meglitinidnu skupinu u koju spadaju nateglinid, uglavnom metabolizira enzim CYP2C9, te je za očekivati da njegovi polimorfizmi mogu utjecati na klirens tih lijekova.

### 1.9.1. Tolbutamid

Tolbutamid je slabije učinkovit antidijabetik nego derivati druge generacije sulfonilureje poput glipizida i gliburida, te se rjeđe koristi u terapiji zbog veće mogućnosti razvoja nuspojava (jaka hipoglikemija), u usporedbi s novijim lijekovima druge generacije sulfonilureje kao što je gliburid. Ima kratko vrijeme djelovanja zbog brzog metabolizma, stoga je siguran pogotovo za stariju populaciju dijabetičara. Tolbutamid se prvenstveno metabolizira tolihidroksilacijom putem CYP2C9 do 4'-OH-tolbutamida i često se koristi kao supstrat za određivanje aktivnosti CYP2C9. Početni korak, te korak koji određuje brzinu reakcije je metilhidroksilacija tolbutamida do 4'-OH-tolbutamid, te daljnjom oksidacijom 4'-OH-tolbutamida citosolnim ADH i ALDH nastaje karboksitolbutamid. Obadva metabolita se izlučuju putem bubrega, dok se manje od 1% doze tolbutamida izlučuje u nepromjenjenom obliku u urinu. Istraživanja u kojima su korištena monoklonalna antitijela su ukazala da CYP2C9 katalizira 78-93% reakcija metilhidroksilacije tolbutamida u jetrenim mikrosomima kod ljudi, dok za ostalih 7-22% se smatra da je odgovoran enzim CYP2C19 [211]. I enzimi CYP2C8 i CYP2C18 hidroksiliraju tolbutamid, ali u znatno manjoj mjeri nego CYP2C9. Pojedinci homozigoti i heterozigoti za alel *CYP2C9*\*3 su imali 2 i 6 puta višu vrijednost AUC tolbutamida, nego pojedinci genotipa \*1/\*1 [212,213]; propisana doza tolbutamida za nosioce alela *CYP2C9*\*3 je bila niža u usporedbi s pojedincima s genotipom \*1/\*1. U studiji u kojoj su 23 zdrava dobrovoljca uzimala jednaku dozu tolbutamida (500 mg), srednji klirens oralno uzetog tolbutamida za ispitanike s genotipom \*1/\*1, \*1/\*2, \*2/\*2, \*1/\*3, \*2/\*3 i \*3/\*3 iznosio je 0,97, 0,86, 0,75, 0,56, 0,45 i 0,15 L/sat [212]. Na osnovi analize tih odnosa genotip-fenotip,

autori su klasificirali 3 tipa metabolizatora tolbutamida; brze metabolizatore (\*1/\*1, \*1/\*2, \*2/\*2), srednje brze metabolizatore (\*1/\*3, \*2/\*3) i spore metabolizatore (\*3/\*3). Prema ovoj klasifikaciji, srednje brzi i spori metabolizatori obuhvaćali su 12 % i 1% svih ispitanika. Još jedno istraživanje na 18 zdravih korejskih ispitanika koji su uzimali jednaku dozu tolbutamida (500 mg) je otkrilo da su ispitanici heterizigoti za alel *CYP2C9*\*3 imali 2 puta veću vrijednost AUC i značajno povećan poluvijek eliminacije  $t_{1/2\beta}$  u odnosu na ispitanike homozigote za alel *CYP2C9*\*1 [213]. Vrijednost AUC 4'-OH-tolbutamida u plazmi i omjer koncentracija 4'-OH tolbutamida i tolbutamida je bio 2 puta veći kod pojedinaca s divljim tipom genotipa, nego kod pojedinaca heterozigota za alel *CYP2C9*\*3. Polimorfizam *CYP2C19* nije značajno utjecao na farmakokinetiku tolbutamida. U drugoj studiji (214) pri dozi od 500 mg tolbutamida dnevno, vrijednost AUC u plazmi se značajno povećala za 1,5 i 1,9 puta kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9*\*1/\*2 i *CYP2C9*\*1/\*3 u usporedbi s pojedincima s genotipa \*1/\*1. Uočeno je značajno smanjenje oralnog klirensa (29 i 48 %) i klirensa metabolita (38 i 56 %) kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9*\*1/\*2 i *CYP2C9*\*1/\*3 u usporedbi s pojedincima s genotipom \*1/\*1 [214]. Koncentracije izlučenog 4'-OH-tolbutamida i karboksitolbutamida u urinu nakon 12 sati su bile značajno smanjena kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9*\*1/\*2 i *CYP2C9*\*1/\*3, u odnosu na pojedince s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1. Koncentracija izlučenih metabolita 4'-OH-tolbutamida i karboksitolbutamida u urinu tijekom 12 sati je u korelaciji s oralnim klirensom tolbutamida i metaboličkim klirensom, te stvaranjem metabolita 4'-OH-tolbutamida i karboksitolbutamida. Studija u kineskoj populaciji navodi da su vrijednost AUC tolbutamida pri dozi od 500 mg porasle za 20% i 116% kod ispitanika s genotipom *CYP2C9*\*1/\*3 i *CYP2C9*\*3/\*3 u odnosu na ispitanike s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1 [215]. Oralni klirens tolbutamida je smanjen za 11 i 68 %, dok je metabolički klirens smanjen za za 3 % i 39 % kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9*\*1/\*3 i *CYP2C9*\*3/\*3 u usporedbi s pojedincima s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1. Međutim bez obzira na sve prikazane rezultate, dokazi o utjecaju varijanti *CYP2C9* na terapijski učinak tolbutamid su proturiječni. U studiji na 23 zdrava ispitanika koji su uzimali dozu od 500 mg tolbutamida pokazano je da genotip *CYP2C9* nije utjecao na krivulje koncentracije inzulina i glukoze u određenom vremenu [212]. Međutim u drugoj studiji [213], na korejskim ispitanicima, uočena je 2,7 puta povećana vrijednost AUC glukoze u krvi kod ispitanika s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1 u usporedbi s ispitanicima s genotipom *CYP2C9*\*1/\*3 nakon uzimanja oralne doze od 100 g dekstroze sat vremena nakon uzimanja doze tolbutamida.

### 1.9.2. Klorpropamid

Klorpropamid je dugodjelujući hipoglikemijski lijek, derivat sulfonilureje i koristi se za liječenje dijabetesa tipa 2 [210]. Brzo smanjuje koncentraciju glukoze u krvi stimuliranjem oslobađanja inzulima iz  $\beta$ -stanica gušterače. Brzo se apsorbira iz gastrointestinalnog trakta. Poluvijek eliminacije klorpropamida je otprilike 36 sati. Klorpropamid se uglavnom metabolizira u ljudskim jetrima (do 80% pojedinačne doze), a nekoliko njegovih metabolita, 3-hidroksiklorpropamid, p-klorbenzen sulfonilureja i p-klorbenzen sulfonamid, nađeni su u urinu nakon oralno uzete doze. Enzimi CYP2C9 i CYP2C19 kataliziraju nastajanje metabolita 2-OH-klorpropamida *in vitro* [211]. Na klirens klorpropamida kod ljudi utječe polimorfizam CYP2C9, dok polimorfizam CYP2C19 nema značajan utjecaj. Nebubrežni klirens klorpropamida je značajno smanjen kod pojedinaca s genotipom CYP2C9\*1/\*3, u usporedbi s pojedincima s genotipom CYP2C9\*1/\*1. Metabolički omjer klorpropamida i 2-OH-klorpropamida u urinu nakon 24 sata je bio značajno povišen kod pojedinaca s genotipom CYP2C9\*1/\*3, u odnosu na one s genotipom CYP2C9\*1/\*1.

### 1.9.3. Glibenklamid (gliburid)

Gliburid pripada drugoj generaciji oralnih hipoglikemika derivata sulfonilureje a koristi se u žena za liječenje predgestacijskog i gestacijskog dijabetesa [216]. Gliburid ima relativno dug poluvijek eliminacije  $t_{1/2\beta}$  od 15 do 20 sati. Izlučuje se kao metabolit putem žuči i urina, u podjednakom obimu od 50%. Gliburid se najvećim dijelom metabolizira u jetri, te su 2 metabolita pronađena u urinu, 4-trans-hidroksicikloheksil gliburid (M1) i 3-cis-hidroksicikloheksil gliburid (M2) [217]. 50% nastalih metabolita M1 i M2 izlučuju se putem bubrežne eliminacije. Obadva metabolita su farmakološki aktivna i imaju snažan hipoglikemijski učinak. Istraživanja na jetrenim i posteljničnim ljudskim mikrosomima otkrila su da metabolizmom nastaju još 4 metabolita [218]. Enzim CYP3A4 je glavni metabolizator gliburida, uz manji doprinos CYP2C9 i CYP2C19 [219]. Ipak, nekoliko studija je pokazala da alel CYP2C9\*3 značajno utječe na farmakokinetiku gliburida [220-223]. Skupina s genotipom CYP2C9\*1/\*3 je imala značajno povećanu AUC gliburida (1,5 puta), te značajno smanjen oralni klirens (40%), u odnosu na skupinu s divljim genotipom [220]. Povećanje AUC gliburida za 2,8 puta je opaženo kod zdravih pojedinaca s genotipom CYP2C9\*1/\*3 u usporedbi s pojedincima koji su imali genotip CYP2C9\*1/\*1 [221]. U drugoj studiji ispitanici s genotipom CYP2C9\*1/\*3 i \*3/\*3 su imali 1,4 i 2,3 puta veći AUC gliburida, u odnosu na genotip



*CYP2C9\*1/\*1* [222]. Također su zabilježene povišene vrijednosti inzulina u serumu 12 sati nakon uzimanja doze, u homozigotnih nosioci alela *CYP2C9\*3*, dok koncentracija glukoze u krvi nije bila značajnije promijenjena. Studija u kineskoj populaciji je pokazala da su ispitanici s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* imali 2 puta veću koncentraciju gliburida, te veće potrebe za oralnim nadomjescima šećera zbog niske koncentracije glukoze u krvi [223].

#### 1.9.4. Gliklazid

Nakon oralne primjene, gliklazid se metabolizira pri čemu nastaju metaboliti, od kojih su najvažniji metilhidroksigliklazid i karboksigliklazid. Kao i kod strukturno srodnih spojeva 4-metilsulfonilureje tolbutamida i torasemida, glavni metabolički put je hidroksilacija, te daljnja oksidacija do pripadajuće ugljične kiseline. Uz to gliklazid se hidroksilira, pri čemu može nastati 7 potencijalnih monohidroksiliranih metabolita, od kojih su 4 detektirana u urinu. *In vitro* studije su pokazale da je enzim CYP2C9 glavni katalizator reakcija 6-, 7- i metil- hidroksilacije, premda i enzim CYP2C19 može sudjelovati u metil hidroksilaciji gliklazida [224]. Polimorfni enzimi CYP2C9, 2C18 i 2C19 kataliziraju 6-, 7- i metil- hidroksilaciju gliklazida, dok enzim CYP2C8 katalizira samo 6- i 7- hidroksilaciju. Zhang sa suradnicima [225] je istraživao povezanost genotipa *CYP2C9* s farmakokinetikom gliklazida (formulacija lijeka s postupnim oslobađanjem) kod 24 zdrava kineska dobrovoljaca. Skupina s genotipom *CYP2C9\*1/\*13* je imala 2 puta veću vrijednost AUC i Cmax gliklazida, te 2 puta dulji poluvijek eliminacije  $t_{1/2\beta}$  u usporedbi s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* (n=13) i pojedinaca s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* (n=8) (AUC:46,8 vs 26,9 vs 21,5  $\mu\text{g/mL}$  sat;  $t_{1/2\beta}$ : 33,5 vs 18,7 vs 16,7 sati, ali ta razlika nije bila statistički značajna. U istoj studiji zabilježen je porast vrijednosti AUC gliklazida od 3,4 puta kod sporih metabolizatora za CYP2C19 s genotipom *\*2/\*2*, *\*2/\*3* i *\*3/\*3* u usporedbi s ispitanicima s genotipom divljeg tipa (n=9). Prisutnost alela *CYP2C9\*13* je povezana s prisutnošću alela *CYP2C9\*2*. Od 3 ispitanika s genotipom *CYP2C9\*1/\*13*, dvoje su imali genotip *CYP2C9\*1/\*2*, a jedan je imao genotip *CYP2C9\*2/\*2* [225]. Stoga je teško procijeniti koliki je zapravo utjecaj alela *CYP2C9\*13* na farmakokinetiku gliklazida u istraživanjima *in vivo*. U tom istraživanju u kineskoj populaciji, niti jedan ispitanik koji je spori metabolizator za CYP2C9 (ispitanici s genotipom *CYP2C9\*3/\*3*, *CYP2C9\*3/\*13* i *CYP2C9\*13/\*13*) nije bio uključen u istraživanje upravo zbog jako niske pojavnosti alela *CYP2C9\*13* i *CYP2C9\*3*, te je farmakokinetički profil gliklazida kod tih ispitanika nejasan [226,227].

### 1.9.5. Glipizid

Glipizid pripada drugoj generaciji derivata sulfonilureje. Oralna bioraspoloživost iznosi 80-110%. Prosječni poluvijek eliminacije  $t_{1/2\beta}$  iznosi 3-4,7 sati (raspon: 2-4,7 sati), bez obzira da li je glipizid uzet oralno ili intravenozno, stoga ima srednje dugo vrijeme djelovanja. Glipizid se u potpunosti metabolizira I. i II. fazom metabolizma u jetrima. Metabolizira se primarno na cikloheksilnom prstenu, te nastaje glavni metabolit 4-trans-hidroksi glipizid, uz 3-cis-hidroksi glipizid, N-(2-acetilaminoetilfenilsulfonil)-N'-cikloheksil urea (DCDA) i još 2 neidentificirana metabolita. Hidroksilirani metaboliti dalje podliježu glukuronidaciji. Glipizid, njegovi oksidirani metaboliti i glukuronidi se izlučuju najvećim dijelom putem urina (60-90%). Manje od 10% doze se izlučuje urinom u nepromjenjenom obliku unutar 24 sata od uzimanja lijeka, 20-60% doze u obliku 4-trans-hidroksi glipizida, 10-15% u obliku 3-cis-hidroksi glipizida, 1-2% kao DCDA, te ostatak ukupne doze kao neidentificirani metaboliti. Nema podataka dobivenih *in vitro* da su enzimi CYP uključeni u njegov metabolizam. U studiji bioraspoloživosti glipizida, jedan ispitanik, muškarac bijele rase je razvio jaku hipoglikemiju, koja je povezana s 5,5 puta većom vrijednosti AUC-a i 5 puta smanjenim klirensom, u usporedbi s ostalih 10 ispitanika [191]. Kasnije je otkriveno da je taj pojedinac imao genotip *CYP2C9*\*3/\*3, te je imao 5 puta manji klirens fenitoina (također supstrat *CYP2C9*) u usporedbi s ostalih 11 ispitanika. Sklonost pojavljivanju hipoglikemije opažena je kod istodobnog uzimanja glipizida i inhibitora enzima *CYP2C9* (flukonazol ili sulfometoksazol) [228], iako farmakokinetika glipizida nije bila proučavana u ovom istraživanju. U drugoj studiji zapaženo je povećanje od 100% AUC glipizida i 51,1% smanjenje klirensa nakon oralno uzete doze kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9*\*1/\*3, u odnosu na osobe s genotipom divljeg tipa [229]. Promjena vrijenosti inzulina u krvi na tašte nakon sat vremena je bila 3,8 puta veća kod pojedinaca s genotipom \*1/\*3, u usporedbi s pojedincima s genotipom \*1/\*1. Taj podatak ukazuje na važnu ulogu *CYP2C9* u klirensu glipizida i njegovom hipoglikemijskom učinku.

### 1.9.6. Glimepirid

Glimepirid pripada trećoj generaciji derivata sulfonilureje. Nakon intravenozne ili oralno uzete doze, glimepirid se u potpunosti apsorbira i metabolizira oksidacijom putem *CYP2C9* do glavnog metabolita cikloheksil hidroksimetil derivata (M1) koji dalje podliježe dehidrogenaciji citosolnim alkoholom i aldehid dehidrogenazama (ADH i ALDH) do derivata karboksilne kiseline. Kod životinja, metabolit M1, ali ne i M2, ima 1/3 farmakološke aktiv-

nosti glimepirida. Međutim, još uvijek nije razjašnjena klinička važnost aktivnosti metabolita M1 na snižavanje glukoze u krvi. Oko 60% oralno unesene doze glimepirida izlučuje se putem bubrega, ponajviše u obliku metabolita M1 i M2 (80-90%), dok se preostalih 40% oralno uzete doze izlučuje putem fecesa u obliku M1 i M2 (70%). Nakon uzimanja jedne doze glimepirida, vrijednost AUC u plazmi je bila 2,67 puta veća kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* (n=3) u odnosu na pojedince s genotipom *CYP2C9\*1/\*1*, (n=12) [221]. Međutim, nije uočena značajna razlika u vrijednosti glukoze u krvi između ta dva genotipa. U kliničkoj studiji u kojoj su ispitanici primali jednaku dozu lijeka, zapažena je povećana vrijednost AUC glimepirida kod ispitanika s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* i *CYP2C9\*3/\*3* za 1,3 i 1,5 puta [226]. U navedenom istraživanju, metabolički klirens glimepirida je bio snižen, te je smanjeno stvaranje metabolita M1 (te inaktivnog metabolita M2) kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9\*1/\*3*. U japanskih bolesnika s dijabetesom i s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* zabilježene su povećane vrijednosti AUC glimepirida nakon pojedinačne doze od 1 mg za 2,5 puta u usporedbi s pojedincima s genotipom divljeg tipa (762,7 ng/mL po satu vs 292,0 ng/mL na sat) [227]. Dakle, bolesnici s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* su imali 2,8 puta niži oralni klirens glimepirida u usporebi s bolesnicima s genotipom divljeg tipa (1,35 vs 3,78 L/sat). Iz rezultata se može zaključiti da pojedinci s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* imaju nižu stopu hidroksilacije glimepirida u usporedbi s pojedincima s genotipom divljeg tipa. Zapažen je snižen klirens glimepirida i smanjeno stvaranje metabolita M1 kod mutiranog enzima u usporedbi s aktivnosti enzima divljeg tipa (10,3 vs 45,1 mL/min/nmol P450) [227]. Isti autori su također istraživali utjecaj polimorfizma *CYP2C9* na terapijski učinak glimepirida u japanskih bolesnika s dijabetesom, koji su primali svakodnevno 1 mg glimepirida tijekom 6 mjeseci. Uočili su značajno smanjenje glikoziliranog hemoglobina u krvi (HbA<sub>1c</sub>) kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9\*1/\*3*, u usporedbi s pojedincima s genotipom *CYP2C9\*1/\*1*. Dugotrajnim praćenjem 2 bolesnika s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* uočeno je da su ta 2 pojedinca bolje odgovarali i podnosili liječenje glipizidom u početnoj fazi, izraženo vrijednostima HbA<sub>1c</sub>, koncentracijom glukoze i imunoreaktivnog inzulina u krvi, ali je jedan bolesnik dobio 7,5 kilograma na težini nakon 17-mjesečne terapije glimepiridom [227]. Ta otkrića ukazuju da povećane koncentracije glimepirida kod pojedinaca nosica genotipa *CYP2C9\*1/\*3* mogu pospješiti njegov farmakološki učinak. Ali s obzirom na malen uzorak, utjecaj genotipa *CYP2C9* na terapijski učinak se mora ispitati u kliničkim studijama na većoj skupini ispitanika, s dugotrajnim praćenje učinkovitosti.

### 1.9.7. Nateglinid

Nateglinid je derivat meglinida, nesulfonilurejski hipoglikemijski agens. On je aminokiselinski derivat AK D-fenilalanina i smanjuje koncentraciju glukoze u krvi stimulirajući oslobađanje inzulina iz  $\beta$ -stanica gušterače, zatvarenje ATP-ovisnih kalijevih kanala ( $K_{ATP}$ ), koji se nalaze u membrani  $\beta$ -stanica [229]. Nateglinid se ponajviše metabolizira u jetri, s poluvijekom eliminacije od 1,5-1,7 sati. Farmakokinetika nateglinida je linearna u rasponu doza 60-240 mg [230] s apsolutnom oralnom bioraspoloživosti od 72%. Nema značajne promjene u farmakokinetici kod bolesnika sa smanjenom bubrežnom funkcijom, te kod bolesnika s blagim zatajenjem bubrega. Nateglinid se hidroksilira (oko 70%), zatim slijedi glukuronidacija hidroksiliranih metabolita, te se stvoreni metaboliti izlučuju pretežno (84-87%) urinom. Nakon uzimanja nateglinida oralno ili intravenozno, najmanje 9 metabolita je pronađeno u plazmi i urinu. Od tri monohidroksilirana metabolita (M1, M2 i M3), dva su diastereoizomeri. Također, još je dodatno identificiran metabolit s nezasićenom izopropilnom skupinom (M7), te 2 izomera koji u svojoj strukturi imaju diolne skupine (M11 i M12). Također su pronađeni u urinu glukuronidi i njegovi izomeri koji su nastali glukuronidacijom karboksilne skupine (M4, M5, M6). Nakon oralne ili intravenozne administracije, najdominantniji maksimum u plazmi imao je izvorni lijek a u urinu njegov metabolit M1. M1 je također glavni cirkulirajući metabolit. Metaboliti identificirani nakon oralno uzete doze, M11, M12, M2/M3 i M7 su imali vrijednosti AUC otprilike međusobno slične, a iznosile su otprilike polovicu vrijednosti metabolita M1. Glavni metabolit M1 ima slabiju antidijabetičku aktivnost nego nateglinid, dok sporedni izopropenski metabolit M7 ima sličnu antidijabetičku aktivnost kao i nateglinid. Glavni metabolički put za nateglinid je CYP2C9 (70%), uz aktivnost CYP3A4 u manjoj mjeri (30%) [230]. Zdravi pojedinci s genotipom *CYP2C9* \*1/\*3 i \*3/\*3 su imali 1,2 i 2 puta veće vrijednosti AUC nateglinida, dok su pojedinci s varijantom \*2, imali slične vrijednosti kao i pojedinci s genotipom \*1/\*1 [231].

## 1.10. Ostali lijekovi

### 1.10.1. Fluvastatin

Fluvastatin je inhibitor reduktaze 3-hidroksi-3-metil-glutaril-koenzim A (HMG-CoA), poznatiji kao 'statin', a koristi se u liječenju primarne hiperkolesterolemije i miješane dislipidemije. Nakon oralne doze od 10 mg, apsolutna bioraspoloživost iznosi 24% (9-50%). Nakon jednokratnih ili višekratnih doza iznad 20 mg, fluvastatin ima saturacijski metabolizam prvog prolaza što rezultira većim od očekivanih koncentracija fluvastatina u plazmi [232]. Fluvastatin ima 2 enantiomera, 3R,5S koji je aktivni oblik i neaktivni 3S,5R oblik. Studije *in vitro* su pokazale stereoselektivno vezanje aktivnog enantiomera fluvastatina na jetrene receptore tijekom prvog prolaska kroz jetru, što rezultira drugačijim vršnim vrijednostima ova dva enantiomera, tako da omjer vršnih vrijednosti aktivnog metabolita i inaktivnog metabolita iznosi 0,7 [232]. Oba enantiomera fluvastatina se metaboliziraju na sličan način. Fluvastatin se gotovo isključivo izlučuje jetrenim metabolizmom, ponajviše hidrosilacijom te reakcijama N-deizopropilacije putem N-dealkilacije. Također je moguća  $\beta$ -oksidacija postraničnog lanca. Enzim CYP2C9 u najvećoj mjeri (50-80%) metabolizira fluvastatin, te katalizira stvaranje metabolita 5-hidroksi-, 6-hidroksi- i N-deizopropil-fluvastatina [233]. Enzimi CYP1A1, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6 i CYP3A4 kataliziraju 5-hidrosilaciju fluvastatina *in vitro*. Samo hidrosilirani metaboliti fluvastatina zadržavaju dio inhibitorne HMG-CoA aktivnosti, iako se ne mogu detektirati u krvi. U jednoj kliničkoj studiji je opisana povezanost između genotipa *CYP2C9*\*3/\*3 s 3 puta većom aktivnosti (+)-3R,5S-fluvastatina, nego kod ispitanika s genotipom *CYP2C9*\*1/\*1, dok su ispitanici s genotipom *CYP2C9*\*1/\*3 i *CYP2C9*\*2/\*3 imali vrijednosti koncentracija između gornje dvije [234]. Ukupne vrijednosti kolesterola i lipoproteina niske gustoće (LDL) nisu se razlikovale između ispitanika s različitim genotipom nakon uzimanja lijeka tijekom 2 tjedna. Varijantni alel *CYP2C9*\*2 nije značajno utjecao na farmakokinetiku fluvastatina, kao ni alel *CYP2C8*\*3 koji je u veznoj neravnoteži s alelom *CYP2C9*\*2. Još nije jasno da li postoji povezanost između smanjenog metabolizma fluvastatina zbog polimorfizama *CYP2C9* i rizika od razvoja rabdomiolize. Fluvastatin je supstrat ali i inhibitor CYP2C9 [235].

### 1.10.2. Torasemid

Torasemid je diuretik Henleove petlje, derivat piridin-sulfonilureje, te se koristi u liječenju edema povezanih s kongestivnim zatajenjem srca i hipertenzijom. Torasemid se dobro apsorbira te njegova bioraspoloživost iznosi 80-90%. Torasemid podliježe ekstenzivnom jetrenom metabolizmu, pri čemu nastaju glavni metaboliti M1, M5 i M3 [236]. Kao i tolbutamid, i torasemid se gotovo isključivo metabolizira enzimom CYP2C9 preko toлил metil hidroksilacije do metil-hidroksiliranih metabolita (M1), te dalje do karboksiliranih metabolita (M5) [237]. Studija na 36 zdravih pojedinaca zapazila je povećanje AUC vrijednosti za 1.5, 1.7 i 2.8 puta kod pojedinaca s genotipom *CYP2C9\*1/\*3*, *CYP2C9\*2/\*3* i *CYP2C9\*3/\*3*, dok su pojedinci s genotipom *CYP2C9\*1/\*2* imali slične vrijednosti kao i pojedinci s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* [238]. Prisutnost alela *CYP2C9\*3* je bila povezana s povećanim izlučivanjem elektrolita do 8 sati nakon uzimanje doze torasemida, te je uočeno smanjeno izlučivanje uratne kiseline 24 sata i više nakon uzimanja doze, u usporedbi s divljim tipom alela, dok nije zapažena značajna povezanost između alela *CYP2C9\*2* i volumena urina, količine izlučenog natrija, klorida ili kalija nakon 24 sata od uzimanja lijeka [238]. Oralni klirens torasemida je izravno povezan s brojem alelnih kopija *CYP2C9\*3* [239]. Utjecaj alela *CYP2C9\*3* na farmakokinetiku torasemida i na terapijski odgovor je potvrđen u istraživanjima [240]. Rezultati ukazuju da genetička predispozicija ima umjeren utjecaj na doziranje torasemida, te da genotipizacija *CYP2C9* može doprinijeti točnijem doziranju lijeka. Bolesnici koji su homozigoti za alel *CYP2C9\*3* mogu trebati smanjenje doze torasemida, i zahtijevati praćenje elektrolita u urinu.

## 1.11. Transportni proteini

U novije vrijeme veliki interes u farmakogenetičkim istraživanjima fokusiran je na utjecaj genetičkih varijacija membranskih transportera na farmakokinetiku i toksičnost brojnih lijekova. Vrlo važnu skupinu transportnih proteina ovisnih o ATP s funkcijom prijenosa supstrata iz stanice engl. „*efflux transporters*“ predstavlja superporodica transportera ABC [241]. U ljudi je opisano 48 različitih transportera ABC i svrstano u sedam podporodica na osnovi homologije slijedova i organizaciji domena. Njihove fiziološke i farmakološke funkcije su dobro opisane. Kao i mnoge druge proteine, transportere ABC karakterizira genetički polimorfizam, najčešće SNP (supstitucije delecije ili insercije jednog nukleotida) unutar DNA slijeda, od kojih neki imaju utjecaj na aktivnost proteina [242].

Osim fizioloških supstrata i lijekovi su supstrati nekih transportera ABC, uglavnom ABCB1, ABCC1, ABCC2, i ABCG2. Utkrivanje utjecaja koji ovi polimorfizmi mogu imati na farmakokinetiku (PK) tih lijekova može biti od kliničkog značaja. I doista je uporaba nekih lijekova komplicirana zbog uskog terapijskog raspona, značajnih inter- i intra- PK varijabilnosti među bolesnicima i potencijalnim nastankom ozbiljnih interakcija. Za te se lijekove preporučuje terapijsko praćenje koncentracija (engl. *therapeutic drug monitoring* TDM) i individualizacija doze u svrhu optimiziranja učinkovitosti i smanjenja toksičnosti. U dnevnoj praksi TDM se najčešće temelji na određivanju ostatne „*trough*“ koncentracije u krvi ili plazmi prije slijedeće doze. Polimorfizmi u genima koji kodiraju biotransformacijske enzime i/ili transportne proteine mogu značajno doprinosti varijabilnosti PK, pa genotipizacija nekih ključnih polimorfizama može doprinijeti individualizaciji i optimizaciji terapije.

Tkivna rasprostranjenost transportera ABC je ključna za farmakokinetiku. Nalaze se u crijevima, na krvno mozgovnoj brani, jetri i bubrezima. Stoga imaju važnu ulogu u apsorpciji, distribuciji i izlučivanju kako endogenih supstrata tako i ksenobiotika. Postoje snažni dokazi da genske varijante, koje su povezane s promjenama u ekspresiji proteina ili funkciji transportera, imaju bitan utjecaj na sistemska izloženost lijeku i na njegovu toksičnost [243]. Ukupan učinak na PK parametre je ponekad teško predvidjeti upravo zbog složenosti tih različitih bioloških barijera [244].

Otkriće ksenobiotičima aktivirajućih nuklearnih hormonskih receptora uključujući receptor za pregnan X, konstitutivni androstan receptor, i farnesoid X receptor, doprinijelo je

razumijevanju problematike [245]. Ovi receptori reguliraju ekspresiju različitih transportera uključujući i P-glikoprotein (Pgp).

### 1.11.1. *ABCB1 /P-glikoprotein, P-gp*

Transporter ABCB1, također poznat i kao P-glikoprotein (Pgp) je najprije bio opisan u tumorskim stanicama koje su postale otporne na različite antitumorske lijekove upravo zbog visoke ekspresije Pgp. Zbog toga je ABCB1 najprije bio nazvan *multidrug resistance protein 1- protein multirezistencije* (MDR1), prije nego li je predložena službena nomenklatura za ABC transportere od strane Human Genome Organization (HUGO) 1999. godine (<http://www.genenames.org/genefamily/abc.html>). Zabilježene su i do 50 puta razlike u koncentraciji Pgp u jetri [246]. Stoga su izražaj i aktivnost Pgp važna predispozicija značajnim interakcijama lijekova. Jedna od važnih osobina Pgp je postojanje velikog broja supstrata koji se razlikuju po strukturi i funkciji a obuhvaćaju spojeve od malih molekula poput organskih kationa, karbohidrata, aminokiselina i nekih antibiotika do makromolekula poput polisaharida i bjelančevina. Pgp je kodiran genom *MDR1/ABCB1*.

Identificirano je više polimorfizama (SNP) u genu *ABCB1*, od kojih neki utječu na P-gp ekspresiju i/ili funkciju (vidi ABCB1 na <http://www.pharmgkb.org/search/>). Među polimorfizmima tri su SNP u snažnoj neravnotežnoj vezi (*engl. linkage disequilibrium*): u eksonu 12, 1236C>T (rs1128503), u eksonu 21 2677G>T/A (rs2032582) i u eksonu 26 3435C>T (rs1045642). Ti su SNP vrlo učestali u većini etničkih skupina. Samo polimorfizam 2677G>T/A rezultira supstitucijom aminokiselina (Ala893Ser/Thr), dok su 1236C>T i 3435C>T sinonimni SNP. Najviše do sada istraživani SNP se nalazi u eksonu 26, 3435C>T koji rezultira tihom mutacijom. Prva studija, koja je izvjestila o utjecaju tog polimorfizma, je objavljena 2000. godine. U njoj Hoffmeyer i suradnici iznose da homozigotni nosioci alela *ABCB1 3435T* u prosjeku imaju više od dva puta nižu intestinalnu ekspresiju P-glikoproteina, mjerenu *western blot* analizom, u odnosu na homozigotne nosioce alela 3435C [247]. Sukladno tom učinku na razini proteina, polimorfizam 3435C>T je bio povezan sa smanjenom ekspresijom mRNA i stabilnosti *ex vivo* [248], ali taj nalaz nije potvrđen *in vitro* [249]. Novija istraživanja povezuju ovaj polimorfizam s promjena u supstratnoj specifičnosti [249]. Prisutnost rijetkog kodona, označenog sinonimnim polimorfizmom, može utjecati na vrijeme kotranslacijskog nabiranja (folding) i inserciju Pgp u membranu, i na taj način promijeniti struk-



turu interakcijskog mjesta supstrata i inhibitora. Sveukupno gledano, na temelju postojećih spoznaja *in vivo* utjecaj polimorfizma 3435C>T može uključivati učinke i na transkripcijskoj i na translacijskoj razini, s utjecajem ne samo na Pgp ekspresiju već i na supstratnu specifičnost, što zajedno čini učinke ovog SNP na biodostupnost lijeka teško predvidivima. Promjena aminokiselina Ala893Ser/Thr zbog polimorfizma 2677G>T/A čini se ima malen utjecaj na funkciju Pgp. Ipak imajući u vidu da su tri navedena polimorfizma u jakoj neravnotežnoj vezi, neki autori drže da je analiza haplotipova primjerenija i treba imati prednost u asocijacijskim studijama u odnosu na pojedinačne SNP, najviše zbog pretpostavke da svaki SNP ima barem neki dodatni učinak na funkciju/ekspresiju proteina [250]. U prvoj studiji koja je izvjestila o učincima polimorfizma *ABCB1* 3435C>T na intestinalnu ekspresiju P-gp, autori su također ispitali utjecaj tog SNP na apsorpciju oralno primjenjenog digoksina koji je Pgp supstrat. Kako se digoksin nepromijenjen izlučuje bubrezima PK analiza uglavnom govori o njegovoj apsorpciji i posredno aktivnosti Pgp. Autori su pokazali na zdravim dragovoljcima (n=14) da su homozigotni nosioci polimorfizma (3435TT, n=7) imali značajno više koncentracije (Cmaks) digoksina u plazmi u odnosu na 3435CC nosioce (n=7). Nakon te studije i drugi su proveli slična ispitivanja u različitim etničkim skupinama. Dvije tisuće i pete godine objavljena je meta-analiza na ovu temu i ukupan rezultat u bjelačkoj i japanskoj populaciji nije ukazivao da 3435C>T polimorfizam ima utjecaj na AUC 0-24 sata [251]. Ipak autori su dokumentirali da osobe s 3435CC genotipom imaju niže vrijednosti Cmaks digoksina u usporedbi sa osobama nosiocima 3435TT genotipa, i na taj način upućivali da oralna dostupnost digoksina može biti niža u osoba sa 3435CC genotipom. Također je važno spomenuti da se učinci ovog polimorfizma razlikuju u pojedinim etničkim skupinama. Tako su dragovoljci u bjelačkoj skupini nosioci 3435TT genotipa imali prosječno viši Cmaks ili AUC0-4h ili AUC0-24h [252,253], dok su japanski dragovoljci pokazivali suprotan trend [254,255]. Novije su studije potvrdile nakon provedenih meta analiza više koncentracije digoksina u nosioca 3435TT genotipa [256,257], a posebno 1236T-2677T-3435T haplotipa [258]. Klinička značajnost ovih polimorfizama treba dodatno biti razjašnjena u odnosu na koadministraciju drugih lijekova supstrata, i posebno inhibitora ili induktora Pgp, jer promijenjena aktivnost Pgp kao rezultat indukcije i/ili inhibicije može dovesti do interakcija lijek-lijek s varijabilnom farmakokinetikom i odgovorom na terapiju. Sistemska izloženost oralno primjenjenom digoksinu raste uz koadministraciju rifampicina (Pgp induktor) i u negativnoj je korelaciji s ekspresijom Pgp proteina u tankom crijevu [259]. Provedeno je više studija s Pgp inhibitorima poput kinidina, verapamila, klaritromicina, spironolaktone i ritonavira s digoksinom kao probnim lijekom, i sve su rezultirale u značajnoj redukciji izlučivanja digoksina bubrezima.

Istraživanja u finskoj populaciji su pokazala da su nosioci mutiranih alela imali značajno više koncentracije digoksina a žene su uz to imale i značajno veći rizik intoksikacije digoksinom [260]. Za nekoliko je imunosupresivnih lijekova poznato da su supstrati ABCB1, među njima su najviše istraživani kalcineurin inhibitori ciklosporin (CsA) i takrolimus (Tac). Različite asocijacijske studije između PK parametara imunosupresiva i polimorfizama ABCB1 donose podatke koji nisu jednoznačni. Dok jedne studije nalaze povezanost pojedinih parametara [261,262], druge to nisu uspjele dokazati [263,264]. U slučaju takrolimusa vrlo bitna kovarijabla je i polimorfizam CYP3A5. Navodi se da je intestinalna apsorpcija ciklosporina više povezana s ekspresijom Pgp u odnosu na CYP3A4, premda je ciklosporin supstrat oba proteina. Inhibitorima izazvane promjene u aktivnosti P-gp (lijeak-lijeak interakcije) utječu na oralnu apsorpciju i klirens. Stoga lijekove s uskim terapijskim rasponom, poput digoksina i imunosupresiva ciklosporina i takrolimusa, treba uzimati s velikim oprezom zbog mogućih interakcija na nivou transportnog P-glikoproteina.

Za irinotekan, lijek iz skupine topoizomeraza 1 inhibitora, pokazano je da su PK parametri pod utjecajem ABCB1 haplotipova [265]. Studija je pokazala da je klirens irinotekana i njegova metabolita bio smanjen u bolesnika sa haplotipom ABCB1 1236T-2677T-3435T, ukazujući da ekspresija Pgp u proksimalnim tubulima igra važnu ulogu u bubrežnom izlučivanju lijeka. Za imatinib (inhibitor tirozin kinaze) su novije studije ukazale na povezanost PK parametara s varijantama ABCB1 pri čemu je zabilježeno sporije izlučivanje lijeka u osoba nosioca haplotipa s T alelima. Uz ova ispitivanja za antikancerodne lijekove vrlo je važno provesti ispitivanje utjecaja ABCB1 SNP na intracelularne koncentracije lijeka. Među antiinfektivnim lijekovima, proteaza inhibitori humanog virusa imunodeficijencije su dobro poznati supstrati Pgp. Studije su pokazale kontradiktorne podatke o povezanosti polimorfizama ABCB1 sa PK ovih lijekova. Dok su neki autori našli pozitivne korelacije [266,267], većina rezultata je negativna [268,269]. Triazolni antifungici su također supstrati Pgp ali studije nisu pronašle povezanost PK parametara s polimorfizmima ABCB1 [270,271]. Među antibioticima genotip ABCB1 nije imao utjecaj na PK parametre dikloksacilina [272], dok su PK parametri kloksacilina bili pod utjecajem ABCB1 haplotipova (a ne genotipova) pri čemu su bolesnici s 1236C-2677G-3435C haplotipom imali značajno niže vrijednosti C<sub>max</sub> (2,3 puta), AUC (1,6 puta) i niže izlučivanje mokraćom (2,2 puta) kloksacilina u odnosu na nosioce T-T-T haplotipa [273]. Pgp je također izražen u endotelnim stanicama krvno-mozgovne brane, s funkcijom limitiranja prolaza lijekova u središnji živčani sustav (SŽS), na taj način limitirajući njihovo farmakološko djelovanje i/ili toksičnost. S obzirom na te činjenice, PK parametri u

cerebrospinalnoj tekućini (CSF) pružaju korisnije informacije u odnosu na PK vrijednosti u plazmi ili krvi. Ispitani su različiti antiepileptici kao mogući supstrati Pgp. Za fenitoin su u 3435TT nosioca zabilježene značajno više koncentracije  $C_0$  u odnosu na nosioce bar jednog 3435C alela [274,275]. Seo i suradnici su izvjestili o povezanosti *ABCB1* s učinkovitosti karbamazepina ali ne i sa koncentracijama u plazmi, sugerirajući važnost mjerenja karbamazepina u CSF [276]. Opravdanost takvog pristupa su potvrdili Bašić i sur. dokumentirajući značajno više koncentracije i CSF/plazma omjer fenobarbitona u CSF u bolesnika s 3435TT genotipom u odnosu na 3435CC genotip [277]. Antipsihotici i antidepresivi također moraju prijeći krvnomoždanu branu da bi pokazali farmakološku aktivnost. Studije su pokazale značajan utjecaj polimorfizama *ABCB1* na plazma koncentracije risperidona i njegova aktivnog metabolita 9-OH risperidona [278] s nižim vrijednostima metabolita u nosioca 1236T-23677T-3435T haplotipa [279]. Nosioci *ABCB1* 3435 T alela i *ABCB1* 2667 T-3435 T haplotipa su bili češći među osobama bez ekstrapiramidnih simptoma. Za klopazipin su dokumentirane 1,6 puta više koncentracije lijeka u plazmi u ispitanika s 3435TT genotipom [280]. Istraživanja *in vitro* su pokazala da se farmakokinetičke interakcije lijekova često dešavaju na nivou transportnog P-glikoproteina [281]. Provedena su istraživanja u staničnim kulturama (L-MDR1 stanice - model za humani Pgp; pBCEC stanice- model za krvno-moždanu branu). Ispitivane su moguće interakcije antidepresiva (citalopram, fluoksetin, fluvoksamin, paroksetin, reboksetin, sertralin i venlafaksin) i njihovih glavnih metabolita s P-glikoproteinom. Svi ispitivani lijekovi su pokazali inhibitornu aktivnost prema Pgp. Sertralin i paroksetin su bili najpotentniji u usporedbi s vrijednostima poznatog Pgp inhibitora kinidina. Slične interakcije *in vitro* su ustanovljene i za neke antiepileptike [282]. Literaturni podaci također ukazuju da polimorfne varijante *ABCB1* mogu kvantitativno i kvalitativno odrediti visinu indukcije Pgp i domete interakcija lijekova supstrata Pgp [247,283]. Ustanovljena je njihova povezanost s promijenjenom oralnom biodostupnosti Pgp supstrata, rezistencijom na lijek, i osjetljivosti na razvoj nekih patoloških stanja [284,285]. Ustanovljena je značajna povezanost između nuspojava oksikodona i alela *ABCB1*, pri čemu su varijantni aleli C3435T i G2677T/A imali protektivnu ulogu [286]. Većina istraživača ističe potrebu za daljnjim ispitivanjima da bi se ustanovila fiziološka funkcija i farmakološka uloga Pgp/*ABCB1*.

## 2. Hipoteza

---

Farmakogenetičke varijacije metaboličkog enzima citokroma P-450 (CYP2C9) i transportnog proteina Pgp mogu biti značajan faktor nastanka nuspojava lijekova supstrata navedenih proteina. Rizik za razvoj nuspojava u osoba nosioca varijantnih alela sa posljedičnom slabijom aktivnosti kodiranih proteina naročito dolazi do izražaja u politerapiji s drugim lijekovima koji su također supstrati i/ili inhibitori polimorfnih CYP2C9 i transportnog proteina Pgp.

### 3. Ciljevi istraživanja

---

Cilj ispitivanja je na temelju retrospektivno i prospektivno sakupljenih podataka o nuspojavama lijekova supstrata istog metaboličkog enzima (CYP2C9) i transportnog proteina Pgp procijeniti ulogu polimorfizama u nastanku nuspojava.

#### SPECIFIČNI CILJEVI:

1. Između prijavljenih nuspojava Agenciji za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) u razdoblju od 2005. do 2011. godine izdvojiti osobe s ozbiljnim nuspojavama koje su nastale nakon primjene lijekova supstrata CYP2C9. Odrediti učestalost polimorfizama *CYP2C9*\*2, \*3 u populaciji ispitanika s nuspojavama (N=150), i usporediti ih s učestalosti polimorfizama u populaciji bez nuspojava (N=150).
2. Prema literaturnim podacima odrediti koji su od primijenjenih lijekova supstrata CYP2C9 i lijekova u konkomitantnoj terapiji također i supstrati transportnog proteina Pgp. Odrediti učestalost polimorfizama *ABCB1* 2677G>T/A, 3435C>T.
3. Procijeniti značaj interakcija lijekova te polimorfni oblika metaboličkog enzima i/ili transportnih proteina u nastanku ozbiljnih nuspojava lijekova supstrata.

# 4. Ispitanici, metodologija i plan istraživanja

---

## 4.1. Ispitanici

Iz Nacionalne baze za lijekove (VigiFlow) koju vodi Agencija za lijekove i medicinske proizvode od 10.03.2005. godine analizirane se sve prijave nuspojava na lijekove koje su prijavljene do 31.12.2011. godine. U ispitivanje su uključeni samo ispitanici koji su razvili nuspojave na lijekove. Prijave koje su sadržavale lijekove supstrate CYP2C9, CYP2C9 i transportnog proteina Pgp odnosno lijekove koji su samo supstrati transportnog proteina Pgp uzeti su za analizu ako su lijekovi čiji je klirens preko navedenog enzima veći od 10%, odnosno u razmatranje su uzeti i oni čiji je klirens putem CYP2C9 između 5 i 10%, a radi se o lijekovima koji se često koriste istovremeno u kombinaciji s drugim lijekovima, kao što je to na primjer kod acetilsalicilne kiseline. Kod takvih prijava kontaktiran je prijavitelj sa zamolbom da stupi u kontakt s pacijentom i da ga zamoli da učini farmakogenomsko testiranje na polimorfizme *CYP2C9*\*2, \*3 odnosno na polimorfizam *ABCB1 2677G>T/A, 3435C>T* transportnog proteina Pgp. Svaki pacijent kojem je vađena krv za farmakogenomsku analizu potpisao je informirani pristanak (vidi primjer u dodatku). Nalaz analize koji se koristio u ovom radu istovremeno je poslan liječniku za potrebe individualizacije terapije pacijenta u svrhu izbjegavanja budućih mogućih nuspojava koje su povezane s koncentracijom lijeka. U ispitivanje uključeni su svi pacijenti stariji od 18 godina, oba spola. Pacijenti su preko prijavitelja kontaktirani retrogradno na temelju prijava nuspojava zabilježenih u Nacionalnoj bazi nuspojava lijekova, ali također i prospektivno odmah pri prijavi nuspojave preko individualnog odgovora prijavitelju.

Iz baze podataka prijavljenih nuspojava Agenciji za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) u razdoblju 2005.-2011. godine odabrana je skupina od 158 ispitanika s ozbiljnim nuspojavama na lijekove supstrate metaboličkog enzima CYP2C9. Birani su bolesnici koji su razvili nuspojave na lijekove koji se najvećim dijelom metaboliziraju putem enzima CYP2C9. To su prvenstveno bili lijekovi antikoagulansi kumarinskog tipa, u našoj populaciji varfarin (n=30 ispitanika); nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAR): ibuprofen, indometacin, diklofenak, piroksikam (n=32); antiepileptici: fenitoin, fenobarbiton i valproična kiselina (n=44), te fluvastatin (n=46) i oralni antidijabetici gliburid i glibenklamid (n=6). Skupini

ispitanika s nuspojavama pridružena je skupina ispitanika bez nuspojava (n=155), koja je prema dobi spolu, bolestima i konkomitantnoj terapiji odgovarala skupini s nuspojavama. Za svakog ispitanika zabilježeni su svi lijekovi koje je uzimao, te su razvrstani u lijekove supstrate CYP2C9, supstrate transportnog proteina Pgp i lijekove koji nisu supstrati ni CYP2C9 niti transportnog proteina Pgp. Po uključivanju u studiju u svih je ispitanika izvađeno 5 ml krvi za genotipizaciju.

Svi su ispitanici upoznati s protokolom i svrhom istraživanja, te su prije uključivanja potpisali dokument o obaviještenosti i pristanku (informirani pristanak). Istraživanje je provedeno u Hrvatskoj agenciji za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) i Kliničkom bolničkom centru Zagreb. Istraživanje je odobreno od etičkih povjerenstava Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

## 4.2. Metode

### 4.2.1. Nacionalna baza za nuspojave lijekova (*VigiFlow*)

Nacionalna baza za nuspojave lijekova Republike Hrvatske vodi se u elektronskom obliku u aplikaciji pod nazivom *VigiFlow* koja je bazirana na internetskom radu. Baza je građena po internacionalnim smjernicama i obveznom strukturom propisanom u Europskoj uniji za izmjenjivanje elektronskih podataka o nuspojavama lijekova – smjernica ICH E2B koji se nalazi i kao dodatak u Pravilniku za farmakoviglaciju u Republici Hrvatskoj [9].

Iz baze su uzeti svi podaci o prijavljenim nuspojavama za lijekove u razdoblju od 10.3.2005. godine do 31.12.2011. godine. Prijave cjepiva nisu uzete u obradu.

Kroz modul *Search and statistics* aplikacije *VigiFlow* izlistane su sve prijave nuspojava za navedeno razdoblje.

Podaci su transferirani u statističku aplikaciju IBM SPSS 19 sa sljedećim varijablama: „Report ID“, „Tip reporta“, „Datum zaprimanja“, „Ozbiljnost“, „Smrt“, „Po život opasno stanje“, „Hospitalizacija“, „Kongenitalna anomalija“, „Drugo“, „Kvalifikacija prijavitelja“, „Dob pacijenta“, „Dobna skupina“, „Spol“, „Lijekovi“, „Broj lijekova“, „Supstanca“, „Karakterizacija“, „Očekivanost“, „SOC“, „Nuspojava“, „Ishod“, „Paracetamol“, „Acetilsalicilna kiselina“, „Diklofenak“, „Ibuprofen“, „Indometacin“, „Naproksen“, „Piroksikam“, „Meloksikam“, „NSAR“, „Losartan“, „Telmisartan“, „Valsartan“, „Eprosartan“, „Kandesartan“, „SARTANI“, „Valproat“, „Klopidogrel“, „Gliklazid“, „Glimepirid“, „ORALNI ANTIDIJABETIK“, „Bortezomib“, „Sulfametoksazol“, „Metronidazol“, „BAKTEROSTATICI“, „Amitriptilin“, „CYP2C9“, „Amiodaron“, „Fenitoin“, „Fenobarbiton“, „Ciklofosamid“, „Fluvastatin“, „Verapamil“, „Varfarin“, „Alprazolam“, „Diazepam“, „Fluoksetin“, „Venlafaksin“, „Imatinib“, „ANTIPILEPTICI“, „BENZODIAZEPINI“, „ANTIDEPRESIVI“, „CYP2C9 i PGP“, „CYP2C9 i PGP & CYP2C9“, „Karbamazepin“, „Lamotrigin“, „Flukonazol“, „Klaritromicin“, „Rifampicin“, „Doksorubicin“, „Atorvastatin“, „Simvastatin“, „Ciklosporin“, „STATINI PGP“, „Amlodipin“, „Nifedipin“, „Prednizolon“, „Digoksin“, „Loperamid“, „ANTIPILEPTICI PGP“, „Ca ANTAGONISTI“, „PGP“, „Krv i limfni sustav“, „Srčani sustav“, „Ušni i labirintski sustav“, „Endokrini sustav“, „Oči“, „Probavni sustav“, „Opći simptomi“, „Imunoloski sustav“, „Infekcije i infestacije“, „Pretra-



ge“, „Jetreni i bilijarni sustav“, „Ozljede i trovanja“, „Poremećaj metabolizma i prehrane“, „Mišićni poremećaj“, „Neoplazme“, „Živčani sustav“, „Trudnoća“, „Psihijatrijski poremećaj“, „Bubrežni poremećaj“, „Reproduktivni sustav“, „Respiratorni sustav“, „Kožni poremećaj“, „Socijalni uvjeti“, „Kirurške procedure“, „Krvožilni sustav“, „SOC – SVI“, „Malformacije i teratogenost“.

Svi podaci su anonimizirani, nema podataka o pojedinom pacijentu ili prijavitelju.

#### **4.2.2. Genotipizacija *CYP2C9* i *MDR1/ABCB1***

##### **Oprema**

- Aparat za brzo izdvajanje DNA KingFisher mL (ThermoLab Systems, Finska)
- Uređaj za PCR u stvarnom vremenu, LightCycler 1.2 (Roche Diagnostics, Njemačka)
- Centrifuga, Eppendorf Centrifuge 5810R (Eppendorf, Njemačka)
- Centrifuga, Heraeus Biofuge Pico (Thermo Scientific, SAD)
- Vibracijska miješalica (Koetterman, Njemačka)
- Hladnjak (Gorenje, Slovenija)
- Vodena kupelj Memmert WB10 (Memmert, Njemačka)

##### **Pribor**

- LightCycler® kapilare za PCR u stvarnom vremenu (Roche Diagnostics, Njemačka)
- Epruvete za male količine uzorka, 0,2 mL; 0,5 mL; 1 mL (Eppendorf, Njemačka)
- Automatske pipete 1-100 µL (Eppendorf, Njemačka)
- Nastavci za automatske pipete 1-100 µL (Eppendorf, Njemačka)

##### **Reagensi**

- Kit za brzo izdvajanje DNA (*BioSprint 15 DNA Blood Kit*: proteaza, puferi AL, AW1, AW2, AE, suspenzija MagAttract) (Qiagen, Njemačka)

- Izopropanol (Sigma, Njemačka)
- Smjesa za umnažanje ulomaka DNA, *LightCycler® Fast Start DNA Master plus HybProbe master mix* (Taq DNA polimeraza, pufer, dNTP smjesa) (Roche Diagnostics, Njemačka)
- MgCl<sub>2</sub> (25mM) (Roche Diagnostics, Njemačka)
- LightMix<sup>®</sup> kit CYP2C9\*2\*3 (TIB MOLBIOL, Njemačka)
- Početnice i hibridizacijske probe (TIB MOLBIOL, Njemačka)
- H<sub>2</sub>O sterilna destilirana
- Izdvajanje DNA iz 200μl pune krvi sa Na-EDTA antikoagulansom provedeno je na aparatu KingFisher (ThermoLab Systems, Finska), s kitom za izdvajanje DNA (Qiagen, Njemačka).
- Umnažanje ulomaka gena *CYP2C9* i *ABCB1* provodilo se metodom temeljenom na lančanoj reakciji polimerazom u stvarnom vremenu (engl. *real time polymerase chain reaction*), na uređaju LightCycler 1.2 (Roche Diagnostics, Njemačka). LightCycler<sup>®</sup> (LC) tehnologija kombinira brze temperaturne cikluse, s mjerenjem fluorescencije dobivenih produkata na principu FRET-a (eng. fluorescence resonance energy transfer, prijenos energije fluorescentnom rezonancijom). Željeni odsječak DNA se umnaža i kvantificira u stvarnom vremenu, što znači da se umnažanje procjenjuje nakon svakog ciklusa. Uporabom hibridizacijskih proba otkrivaju se mutacije gena u samo jednoj bazi i to na temelju temperature taljenja (T<sub>m</sub> - eng. *melting temperature*). Dobivene T<sub>m</sub> vrijednosti prikazuju se grafički u obliku krivulje taljenja, te se pojedini genotipovi razlučuju na temelju dobivenih vrhova krivulje.

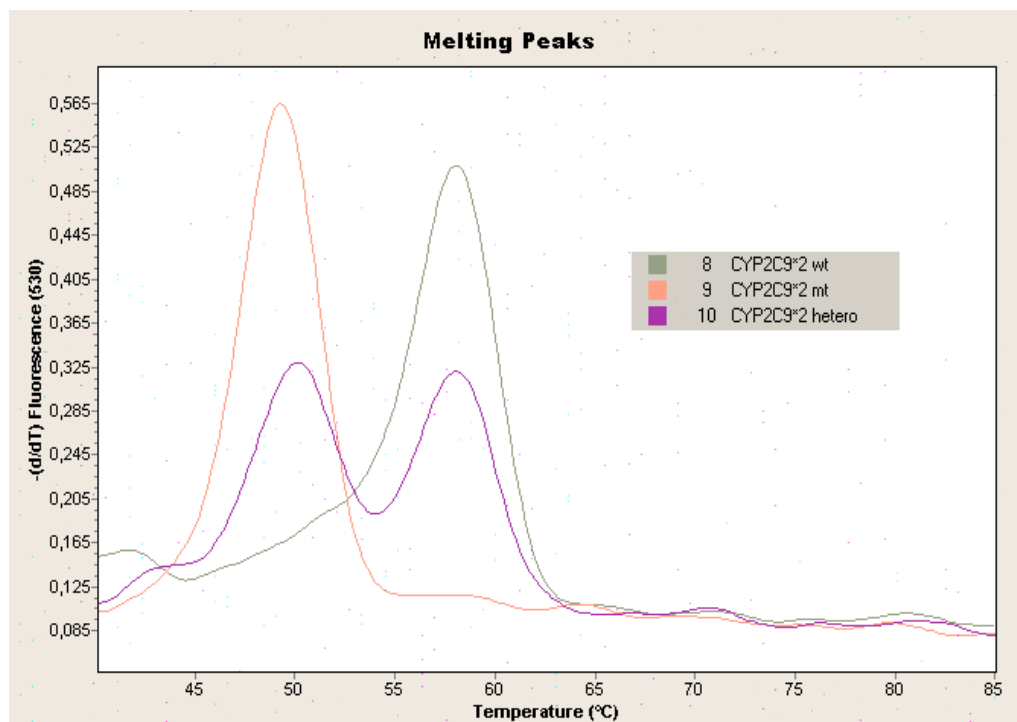
## Genotipizacija CYP2C9

Genotipizacija CYP2C9\*2 (rs1799853) i CYP2C9\*3 (rs1057910) se provodila metodom PCR u stvarnom vremenu uz korištenje reagensa TIB MOLBIOL *LightMix*® na uređaju Roche LightCycler® prema metodi koju su opisali Toriello i suradnici [287].

Reakcijska smjesa za PCR u stvarnom vremenu, u volumenu od 20µL sadržava: *LightMix*® CYP2C9\*2 \*3 2µl, *Fast Start DNA Master HybProbe master mix* 2µl, MgCl<sub>2</sub> (25mM) 1,2µl, H<sub>2</sub>O sterilna destilirana 9,8µl, 5 µl DNA (500 ng DNA).

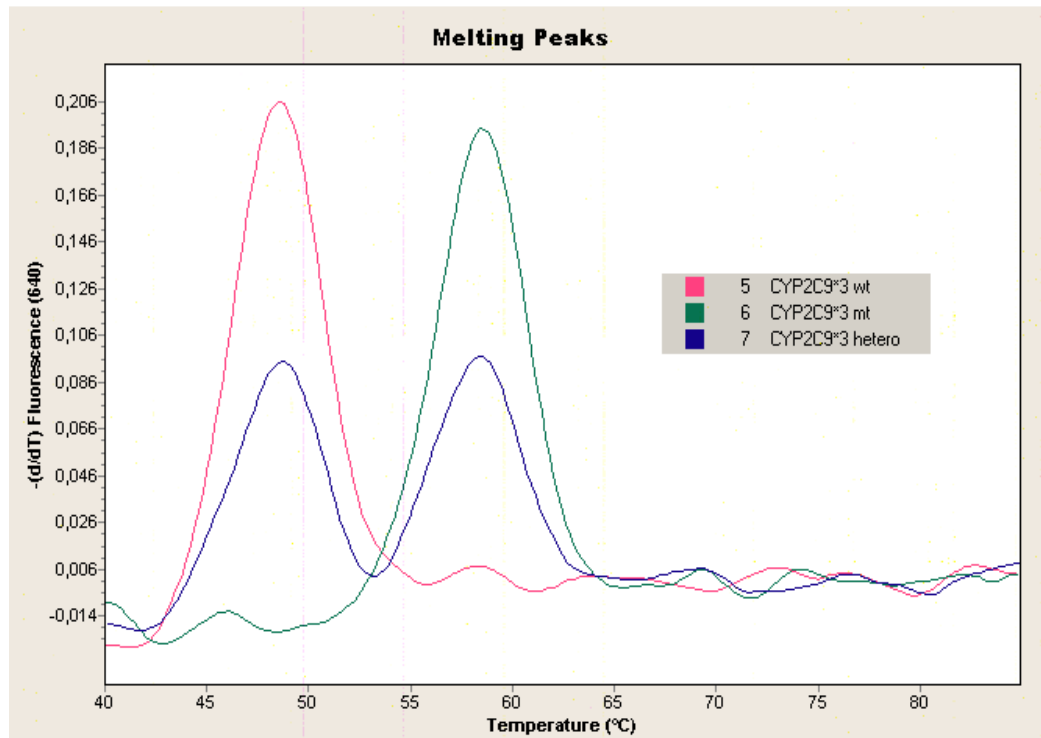
Uvjeti PCR: denaturacija na 95°C 10 min; amplifikacija u 45 ciklusa na 95°C 5 s, 60°C 10 s i 72°C 15 s; analiza temperature taljenja na 95°C 20 s, 40°C 20 s, 85°C; hlađenje 40°C 30 s.

**Slika 1.** Analiza CYP2C9\*2



Analiza CYP2C9\*2:            \*1/\*1    58,5° C  
   \*1/\*2    58,5° C, 48,3° C  
   \*2/\*2    48,3° C

Slika 2. Analiza CYP2C9\*3



Analiza CYP2C9\*3:

\*1/\*1 50,5° C

\*1/\*3 50,5° C, 58,3° C

\*3/\*3 58,3° C

## Genotipizacija MDR1/ABCB1

- Za analizu polimorfizma ABCB1 2677G>T/A (rs2032582) u eksonu 21 primijenjena je metoda opisana u literaturi [288,289]:

**Reakcijska smjesa** za PCR u stvarnom vremenu, u volumenu od 10 $\mu$ L sadržava:

*Fast Start DNA Master HybProbe master mix* 1x; 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 0,5  $\mu$ M svake početnice; 0,1  $\mu$ M *anchor* probe; 0,05  $\mu$ M *sensor* probe; 0,5  $\mu$ L PBS; 0,5  $\mu$ L DMSO; 500 ng DNA.

**Uvjeti PCR:** denaturacija na 94°C 10 min; amplifikacija u 45 ciklusa na 94°C, 58°C 10 s i 72°C 15 s; analiza temperature taljenja na 94°C 20 s, 32°C 20 s, 70°C; hlađenje 40°C 30 s.

- Za analizu polimorfizma ABCB1 3435C>T (rs1045642) u eksonu 26, primijenjena je metoda PCR u stvarnom vremenu prema opisu iz literature. [290]:

**Reakcijska smjesa** za PCR u stvarnom vremenu, u volumenu od 10 $\mu$ L sadržava: *Fast Start DNA Master HybProbe master mix* 1x; 2 mM MgCl<sub>2</sub>; 1  $\mu$ M svake početnice; 0,3  $\mu$ M *sensor* probe; 0,1  $\mu$ M *anchor* probe; 100 ng DNA.

**Uvjeti PCR:** denaturacija na 95°C 10 min; amplifikacija u 45 ciklusa na 95°C, 55°C 5 s i 72°C 10 s; analiza temperature taljenja na 95°C, 45°C 5 s, 75°C; hlađenje 40°C 30 s.

Početnice i hibridizacijske probe:

G2367T/A f 5'-GCAGGAGTTGTTGAAATGAAAATG-3'

r 5'-CGCCTGCTTTAGTTTGA CTCA-3'

G2367T/A: anchor 5'-LCRed640-CTTTCTTATCTTTCAGTGCTTGTC-ph

sensor 5'-TTCCCAGTACCTTCT-fluorescein

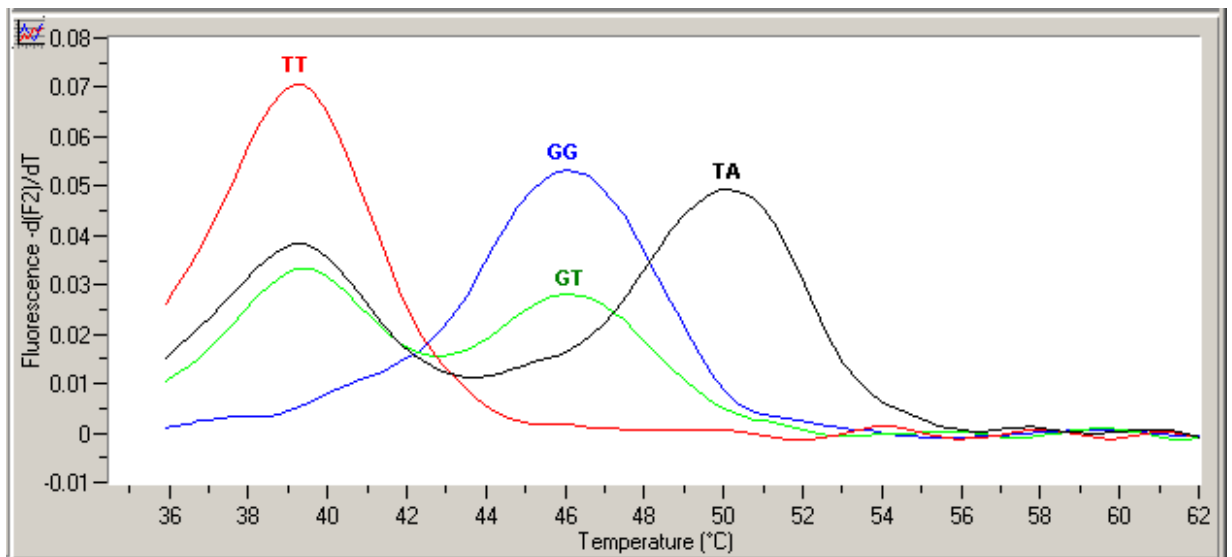
C3435T f 5'-TGT TTTCAGCTGCTTGATGG-3'

r 5'-AAGGCATGTATGTTGGCC TC-3'

C3435T sensor 5'-LC Red640-GGAAGAGATCGTGAGGGCAG-ph

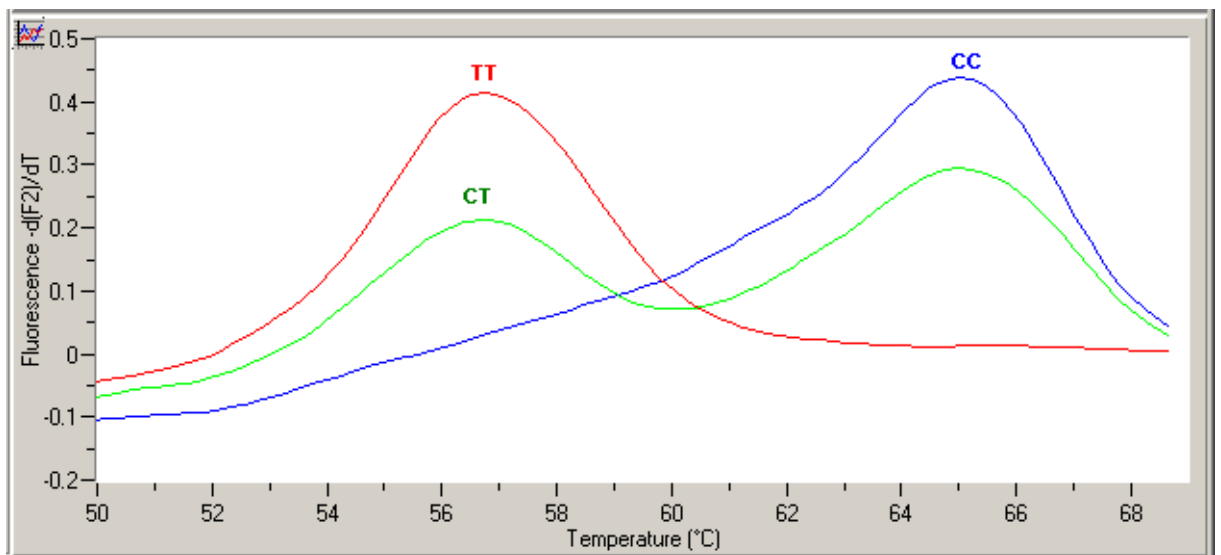
anchor 5'-GACAACAGCCGGGTGGTGTCA –fluorescein

**Slika 3.** Analiza ABCB1 G2677T/A



*Analiza ABCB1 G2677T/A*      *TT* 39° C  
   *GT* 39° C, 46° C  
   *GG* 46° C  
   *TA* 39° C, 51° C

**Slika 4.** Analiza ABCB1 C3435T



*Analiza ABCB1 C3435T:*      *CC* 65° C  
   *CT* 55° C, 65° C  
   *TT* 55° C

### 4.3. Statistika

Za sve analizirane varijable iz Baze nuspojava lijekova napravljena je deskriptivna statistika u programu IBM SPSS 19 (dob, spol, lijekovi, lijekovi supstrata CYP2C9 i Pgp-a, nuspojave – ozbiljnost, SOC). Razina statističke značajnosti određena je na 5% ( $p < 0,05$ ) te su svi intervali pouzdanosti dani na razini od 95%.

Učestalost pojedinog genotipa i alela u skupini pacijenata koji su imali nuspojave i kontrolnoj skupini uspoređena je putem Fisherovog egzaktnog testa te je, u slučaju statistički značajnih razlika, korišten  $\phi$  koeficijent asocijacije kao standardizirana mjera veličine učinka. Univarijatna i multivarijatna predikcija nuspojava određena je putem binarne logističke regresije, a omjeri izgleda dani su uz 95%-tni interval pouzdanosti. Za analizu je korišten programski paket SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Haplotipovi u različitim skupinama sudionika procijenjeni su putem EM algoritma (engl. expectation-maximization) implementiranog u Haploview 4.1 program. Ovaj algoritam stvara populacijske procjene na osnovi maksimalne vjerojatnosti za dani haplotip koju određuje na temelju podataka iz uzorka. Učestalost pojedinog haplotipa određena je zbrajanjem vjerojatnosti (određene putem EM algoritma) za taj haplotip u slučaju svakog pojedinca te su učestalosti u različitim skupinama uspoređene putem hi-kvadrat testa.

## 5. Rezultati

---

### 5.1. Rezultati analize Nacionalne baze nuspojava lijekova HALMED-a (2005. – 2011.)

U Nacionalnoj bazi nuspojava (VigiFlow) koju vodi Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) od 10.03.2005., a u periodu do 31.12.2011. prikupljeno je ukupno 7032 prijava nuspojava za lijekove i cjepiva koji imaju odobrenje za stavljanje u promet u Republici Hrvatskoj i dogodile su se u Republici Hrvatskoj. Radi se o nuspojavama koje su prikupljene spontanim prijavama zdravstvenih radnika i pacijenata te nositelja odobrenja, nuspojavama koje su opisane u literaturi i ozbiljne neočekivane nuspojave iz kliničkih ispitivanja koje su se provodile u Republici Hrvatskoj. Od ukupnog broja, 5062 prijave odnosi se na lijekove, dok ostatak otpada na cjepiva. U analizu su uključene samo prijave na lijekove. U tablici 1. prikazana je distribucija po tipu prijave nuspojava za lijekove (N=5062). 97,6% prijava nuspojava na lijekove otpada na spontane prijave.

**Tablica 1.**

		Tip prijave			
		Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno	Literatura	64	1,3	1,3	1,3
	Drugi	3	0,1	0,1	1,3
	Klinička ispitivanja	53	1,0	1,0	2,4
	Spontana	4942	97,6	97,6	100,0
	Ukupno	5062	100,0	100,0	

Po kvalifikaciji prijavitelja vode zdravstveni radnici, ali od 2009. godine HALMED prima i ocjenjuje i prijave od ne-zdravstvenih radnika (pacijenata, korisnika lijeka ili njihove rodbine ili skrbnika). Od zdravstvenih radnika vode liječnici s oko 70% svih prijava, a na drugom mjestu se nalaze ljekarnici s oko 25%. Prve prijave farmaceuta HALMED je počeo zaprimati od 2006. godine, kada su ljekarnici započeli sa spontanom prijavama nakon edukacija koje su bile provedene od strane HALMED-a. Za 340 prijave nedostaje podatak o kvalifikaciji prijavitelja, a tu se radi prvenstveno o prijavama od strane nositelja odobrenja za stav-



ljanje gotovog lijeka u promet koji u svojim prijavama nisu naveli podatak o primarnom prijavitelju. Detaljan pregled kvalifikacija prijavitelja prikazan je u tablici 2.

**Tablica 2.**

<b>Kvalifikacija prijavitelja</b>					
		Frekvencija	Postotak	Validni Postotak	Kumulativni postotak
Validno	Pacijent	60	1,2	1,4	1,6
	Drugi zdravstveni radnik	56	1,1	1,2	2,8
	Farmaceut	1231	24,3	26,0	28,6
	<b>Liječnik</b>	<b>3375</b>	<b>66,7</b>	<b>71,4</b>	<b>100,0</b>
	Ukupno	4730	93,2	100,0	
Nedostaje		340	6,8		
	Ukupno	340	6,8		
Ukupno		5062	100,0		

U ocjeni nuspojava posebno mjesto zauzima ocjena ozbiljnosti nuspojave. Prijava se smatra ozbiljnom ako zadovoljava jednu ili više kriterija koji su definirane Pravilnikom o farmakovigilanciji [7]: smrt, po život opasno stanje, uzrokovala hospitalizaciju ili produženje hospitalizacije, uzrokovala kongenitalnu malformaciju, uzrokovalo invalidnost ili je drugo ozbiljno medicinsko stanje. Radi se o regulatornom pojmu koji omogućuje da se prijave nuspojava koje su klasificirane kao ozbiljne brže procesuiraju i pobliže prate. U Nacionalnoj bazi za lijekove zabilježeno je nešto manje od 40% ozbiljnih nuspojave (39,1%), što je više nego što literatura navodi – udio oko 25% [1-3]. Prikaz udjela ozbiljnih prijava u Nacionalnoj bazi prikazani su u tablici 3.

**Tablica 3.**

<b>Ozbiljnost</b>					
		Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno	NE	3021	59,7	60,9	60,9
	<b>DA</b>	<b>1940</b>	<b>38,3</b>	<b>39,1</b>	<b>100,0</b>
	UKUPNO	4961	98,0	100,0	
Nedostaje	NA	101	2,0		
Ukupno		5062	100,0		

Od 1940 ozbiljnih prijava nuspojava 5% završilo se smrtnim ishodom u kojem je lijek mogao doprinijeti takvom ishodu. Tablica 4. prikazuje udio nuspojava sa smrtnim ishodom unutar ozbiljnih nuspojava. Prijave koje su označene s „NA“ (Not Applicable) su prijave koje nisu ocijenjene kao ozbiljne.

**Tablica 4.**

		<b>Smrt</b>			
		Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno	NE	1843	36,4	95,0	95,0
	DA	97	1,9	5,0	100,0
	Ukupno	1940	38,3	100,0	
Nedostaje	NA	3122	61,7		
Ukupno		5062	100,0		

**Tablica 5.**

		<b>Po život opasno stanje</b>			
		Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno	NE	1737	34,3	89,5	89,5
	DA	203	4,0	10,5	100,0
	Ukupno	1940	38,3	100,0	
Nedostaje	NA	3122	61,7		
Ukupno		5062	100,0		

**Tablica 6.**

		<b>Hospitalizacija</b>			
		Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno	NE	1331	26,3	68,6	68,6
	DA	609	12,0	31,4	100,0
	Ukupno	1940	38,3	100,0	
Nedostaje	NA	3122	61,7		
Ukupno		5062	100,0		

**Tablica 7.**

<b>Kongenitalna anomalija</b>					
		Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno	NE	1934	38,2	99,7	99,7
	<b>DA</b>	<b>6</b>	<b>0,1</b>	<b>0,3</b>	<b>100,0</b>
	Ukupno	1940	38,3	100,0	
Nedostaje	NA	3122	61,7		
Ukupno		5062	100,0		

**Tablica 8.**

<b>Druga medicinska ozbiljna stanja</b>					
		Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno	NE	873	17,2	45,0	45,0
	<b>DA</b>	<b>1067</b>	<b>21,1</b>	<b>55,0</b>	<b>100,0</b>
	Ukupno	1940	38,3	100,0	
Nedostaje	NA	3122	61,7		
Ukupno		5062	100,0		

Kod ostalih kriterija koji trebaju biti zadovoljeni da se prijava klasificira kao ozbiljna s 55% su one prijave koje imaju nuspojave koje spadaju u „Druga medicinska ozbiljna stanja“, na drugom su mjestu ozbiljne prijave koje zadovoljavaju kriterij „Hospitalizacije“ s više od 30%, zatim nuspojave koje su po život opasne (10%), te na kraju nuspojave koje su prijavljene da su uzrokovale kongenitalne malformacije. Podaci su prikazane od tablice 5. do 8.

Od ukupnog broja prijava (5062) distribucija nuspojava po dobi pokazuje da je najviše nuspojava zabilježeno u skupini odraslih i čini 65,5% svih prijava, a na drugom mjestu su nuspojave u skupini starijih s 19,0% svih prijava. Nažalost čak u nešto više od 10% svih prijava nema označene dobne skupine pacijenta koji je doživio nuspojavu lijeka. Tablica 9. Prikazuje raspodjelu dobnih skupina svih prijava nuspojava na lijekove u Nacionalnoj bazi.

(Podjela starosnih skupina: Novorođenčad: <= 1 mjesec, Mala djeca:<= 4 godine, Djeca: <=11 godina, Adolescenti: <=16 godina, Odrasli: <= 69 godina, Stariji: > 69 godina).

**Tablica 9.**

Dobna skupina				
	Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno				
adolescenti	74	1,5	1,5	1,5
<b>odrasli</b>	<b>3318</b>	<b>65,5</b>	<b>65,5</b>	<b>67,0</b>
djeca	94	1,9	1,9	68,9
stariji	960	19,0	19,0	87,9
mala djeca	83	1,6	1,6	89,5
novorođenčad	9	0,2	0,2	89,7
nepoznato	524	10,3	10,3	100,0
Ukupno	5062	100,0	100,0	

Distribucija spola po prijavama nuspojava u Nacionalnoj bazi je u korist ženskog spola s 62,1% uz 2,3% prijava gdje spol nije naznačen. Tablica 10. Prikazuje distribuciju spola pacijenata po prijavama nuspojava u cijeloj bazi.

**Tablica 10.**

Spol				
	Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno				
<b>Ženski</b>	<b>3145</b>	<b>62,1</b>	<b>62,1</b>	<b>62,9</b>
Muški	1801	35,6	35,6	98,5
Nepoznato	116	2,3	2,3	100,0
Ukupno	5062	100,0	100,0	

Udio prijava gdje su pacijenti uzimali samo jedan lijek u Nacionalnoj bazi iznosi najveći postotak tj. 38% svih prijava. Ovdje treba imati na umu da u ove prijave ulaze i one gdje je prijavitelj upisao samo sumnjivi lijek koji je uzrokovao nuspojavu bez da je naveo i konkomitantnu terapiju. 91% svih prijava su one s do najviše 5 lijekova istovremeno uzetih lijekova, dok na ostalih 9% otpadaju one prijave koje imaju od 6 do čak 19 lijekova koji su uzimani istovremeno! Vidi tablicu 11.

**Tablica 11.****Broj lijekova po prijavi nuspojava**

		Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno	1	1924	38,0	38,0	38,0
	2	1010	20,0	20,0	58,0
	3	702	13,9	13,9	71,8
	4	640	12,6	12,6	84,5
	5	326	6,4	6,4	90,9
	6	170	3,4	3,4	94,3
	7	102	2,0	2,0	96,3
	8	77	1,5	1,5	97,8
	9	38	0,8	0,8	98,6
	10	32	0,6	0,6	99,2
	11	10	0,2	0,2	99,4
	12	8	0,2	0,2	99,5
	13	8	0,2	0,2	99,7
	14	6	0,1	0,1	99,8
	15	3	0,1	0,1	99,9
	16	4	0,1	0,1	100,0
	17	1	0,0	0,0	100,0
	19	1	0,0	0,0	100,0
	Ukupno	5062	100,0	100,0	

Nacionalna baza nuspojava lijekova HALMED-a pretražena je na način da su izdvoje-  
ne prijave lijekova koji spadaju od jedno od tri definirane skupine: da su supstrati CYP2C9,  
da su supstrati CYP2C9 i transportnog proteina Pgp, odnosno da su samo supstrati transpor-  
tnog proteina Pgp, ali ne i supstrati CYP2C9 (ali mogu biti supstrati drugih obitelji citokroma  
P450 (CYP enzima).

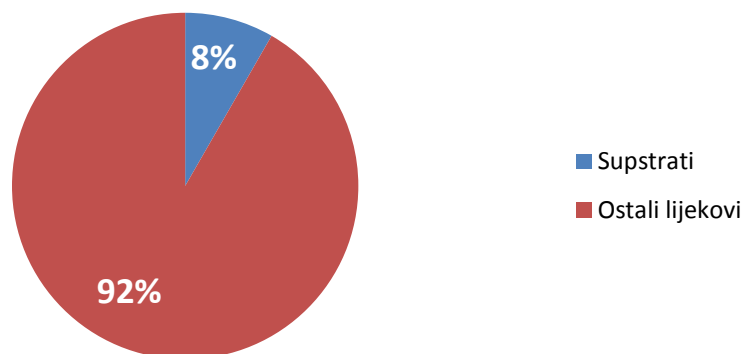
U periodu od 10.3.2005. do 31.12.2011. u Nacionalnoj bazi nuspojava nalazi se 517 li-  
jekova za koje su prijavljene nuspojave (bez cjepiva!). Za ovih 517 lijekova prijavljeno je  
ukupno 5062 prijave za koje neke prijave imaju i više nuspojava, tako da je ukupni broj nus-  
pojava veći.

U Nacionalnoj bazi nuspojava lijekova 43 lijeka spadaju u jednu od definiranih sku-  
pina po tome da li supstrat CYP2C9, supstrati i CYP2C9 i transportnog proteina Pgp, odnosno

samo supstrat Pgp, ali ne i CYP2C9. To čini 8% svih lijekova za koje je HALMED zaprimio prijavu nuspojava u navedenom razdoblju. Vidi i sliku 5 u nastavku.

**Slika 5.**

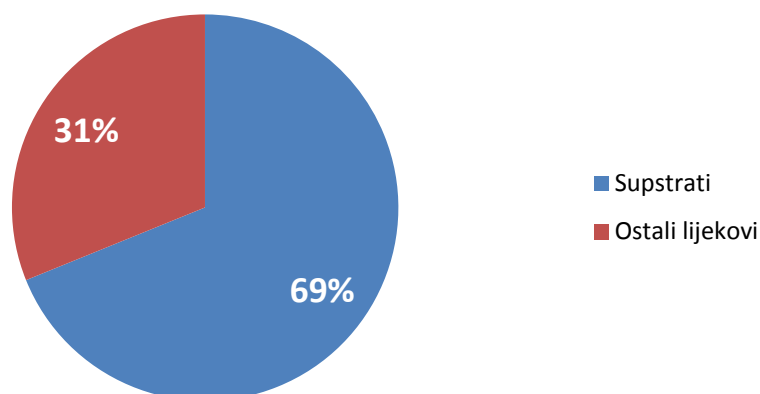
Udio lijekova u Nacionalnoj bazi nuspojava za koje su prijavljene nuspojave



Broj prijava nuspojava lijekova koji u sebi sadrže neki od navedenih supstrata je 3487, od ukupnog broja prijava na lijekove u Nacionalnoj bazi koji iznosi 5062. Broj prijava za lijekove supstrate iznosi 69% svih prijava u Nacionalnoj bazi nuspojava lijekova. (Slika 6.)

**Slika 6.**

Udio prijava u Nacionalnoj bazi nuspojava



### 5.1.1. Supstrati CYP2C9

Analizom je ustanovljeno da se u periodu od 10.03.2005. do 31.12.2010. godine u 1011 prijava nalazio jedan (1) lijek supstrata CYP2C9, u 153 prijave dva lijeka supstrata, u 21 prijave tri lijeka, a u 3 prijave 4 lijeka supstrata CYP2C9, što čini ukupno 23,5% svih prijava za lijekove (Tablica 12).

**Tablica 12.** Broj lijekova koji su supstrati CYP2C9 u jednoj prijavi nuspojava (ICSR) u Nacionalnoj bazi nuspojava lijekova (VigiFlow) u periodu od 2005 do 2011. godine

CYP2C9					
		Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno	.00	3874	76,5	76,5	76,5
	1.00	1011	20,0	20,0	96,5
	2.00	153	3,0	3,0	99,5
	3.00	21	0,4	0,4	99,9
	4.00	3	0,1	0,1	100,0
Total		5062	100,0	100,0	

Supstrati CYP2C9 koji su uzeti za analizu su lijekovi čiji je klirens preko navedenog enzima veći od 10%, odnosno u razmatranje su uzeti i oni čiji je klirens putem CYP2C9 između 5 i 10%, a radi se o lijekovima koji se često koriste u kombinaciji s drugim lijekovima istovremeno kao što je to na primjer kod acetilsalicilne kiseline (Tablica 13). Radi se o lijekovima koji su odobreni u Republici Hrvatskoj, nalaze se na tržištu i koji imaju prijavljene nuspojave u razdoblju od 2005. do 2011. godine.

**Tablica 13.**

Supstrati CYP2C9 koji su pretraživani u Nacionalnoj bazi nuspojava lijekova (VigiFlow):

Supstrat CYP2C9	Ključne riječi (pojmovi) pretraživanja
<b>Paracetamol</b>	Paracetamol
	Ascorbic acid/Caffeine/Phenylephrine hydrochloride/Paracetamol/Terpin hydrate
	Caffeine/Paracetamol/Propyphenazone/Codeine phosphate sesquihydrate
	Paracetamol/Tramadol
	Ascorbic acid/Phenylephrine hydrochloride/Paracetamol
	Ascorbic acid/Paracetamol
	Ascorbic acid/Paracetamol/Pseudoephedrine hydrochloride
	Paracetamol/Chlorphenamine maleate/Sodium ascorbate
	Paracetamol/Tramadol hydrochloride
	Caffeine/Paracetamol/Propyphenazone/Codeine phosphate hemihydrate
<b>Acetil salicilna kiselina</b>	Acetylsalicylic acid
	Acetylsalicylic acid/Ascorbic acid
	Acetylsalicylic acid/Pseudoephedrine hydrochloride
<b>Diklofenak</b>	Diclofenac potassium
	Diclofenac sodium
	Diclofenac
<b>Ibuprofen</b>	Ibuprofen
	Ibuprofen/Levomenol
<b>Indometacin</b>	Indometacin
<b>Naprosken</b>	Naproxen
	Naproxen sodium
<b>Piroksikam</b>	Piroxicam
<b>Meloksikam</b>	Meloxicam
<b>Telmisartan</b>	Telmisartan
<b>Valsartan</b>	Valsartan
	Hydrochlorothiazide/Valsartan
<b>Losartan</b>	Hydrochlorothiazide/Losartan potassium
	Hydrochlorothiazide/Losartan
	Losartan potassium
<b>Eprosartan</b>	Eprosartan
<b>Kandesartan</b>	Hydrochlorothiazide/Candesartan cilexetil
	Candesartan cilexetil
<b>Valproat</b>	Valproate sodium
	Valproic acid/Valproate sodium
	Valproic acid
<b>Klopidogrel</b>	Clopidogrel sulfate
	Clopidogrel sodium
	Clopidogrel bisulfate
<b>Glikazid</b>	Gliclazide
<b>Glimepirid</b>	Glimepiride
<b>Bortezomib</b>	Bortezomib
<b>Sulfametoksazol</b>	Sulfamethoxazole/Trimethoprim
	Sulfamethoxazole
<b>Metronidazol</b>	Metronidazole

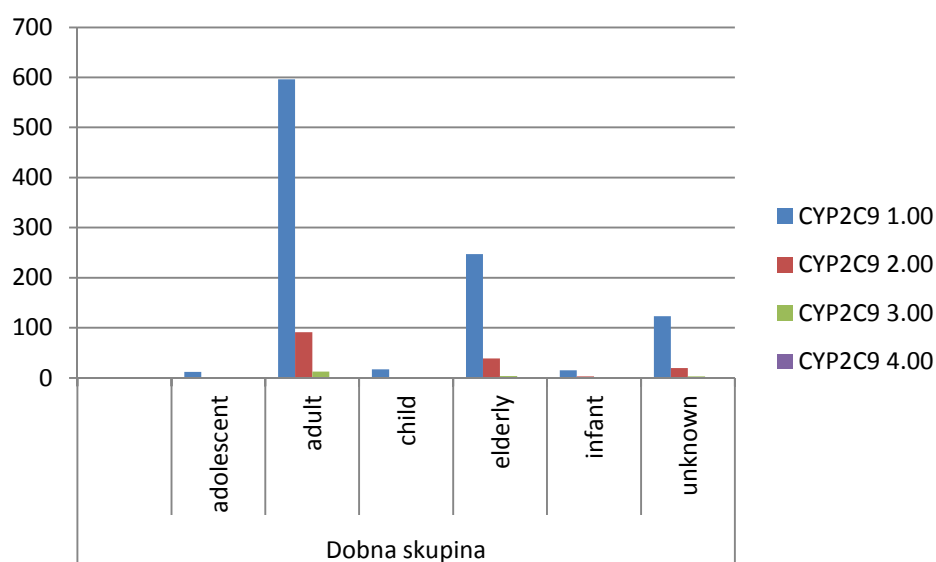


Podjela prijava po spolu pokazuje da je 60,3% svih nuspojava za lijekove supstrate CYP2C9 u Republici Hrvatskoj zabilježeno u žena, što nije statistički značajno različito prema ostalim zabilježenim nuspojavama lijekova u bazi (63,9%,  $p>0,05$ ).

Broj lijekova u istovremenoj primjeni u 1188 prijave koji imaju lijek supstrata CYP2C9 kreće se od 1 do 17. 23.5% ispitanika koristila je samo lijek koji je supstrat CYP2C9. U 20 prijava s dva lijeka oba su bila supstrati CYP2C9, što čini 13,1% lijekova svih prijava s dva lijeka od kojih je barem jedan lijek supstrat CYP2C9. U 3 prijave sva tri lijeka bila su supstrati CYP2C9 što čini 14,3% prijava s tri lijeka koji imaju barem jedan lijek supstrat CYP2C9.

U odnosu na dobnu skupinu u kojoj se pojavljuju nuspojave lijekova supstrata CYP2C9 statistički značajno se najviše pojavljuju odraslih ( $n=702$ ,  $p<0,001$ ; vidi sliku 7).

**Slika 7.** Raspodjela broja prijava po dobnim skupinama (adolescenti, odrasli, djeca, stariji, dojenčad te nepoznata dobna skupina) po broju 1, 2, 3 ili 4 istovremeno uzimanih lijekova koji su supstrati CYP2C9.

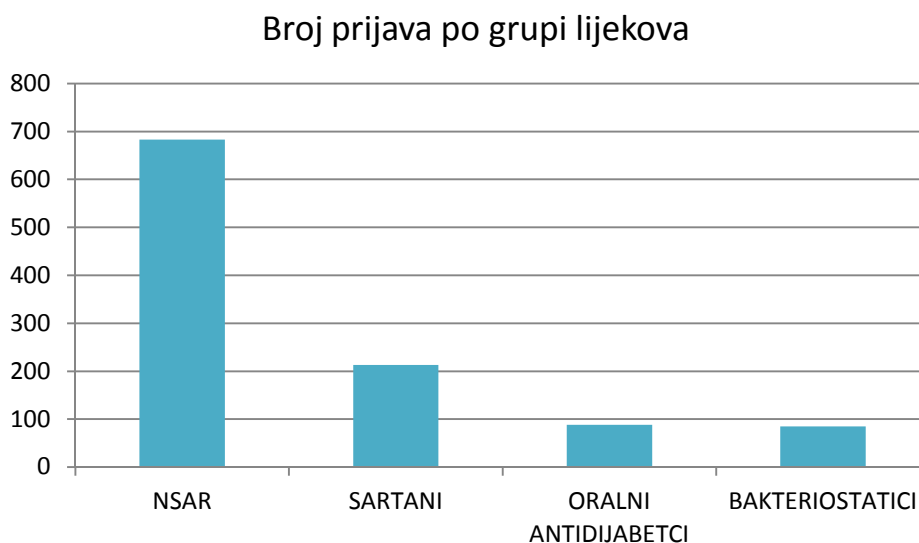


**Slika 8.**



Slika 8. prikazuje broj prijava po aktivnoj supstanci koji pripadaju supstratu CYP2C9. Najveći broj prijava (240) zaprimljenih je za acetilsalicilnu kombinaciju koja se pojavljuje kao monosupstrat ili u kombinaciji (vidi i tablicu 13). Slijedi paracetamol i diklofenak. Bortezomib koji je na visokom četvrtom mjestu po broju prijava se ovdje nalazi iz razloga što je to bila posljedica intenziviranog praćenja nuspojava u postmarketinškom razdoblju, a ne potpuno spontano prijavljivanje. Promatrajući grupe lijekova (Slika 9.) Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAR) značajno vode po broju prijava prema ostalim grupama lijekova supstrata CYP2C9 (683 prijava vs. 386).

**Slika 9.**



### 5.1.1.1. NESTEROIDNI PROTUUPALNI LIJEKOVI (NSAR)

Odnos ozbiljnih nuspojava koji se pojavljuju u grupi NSAR prema ostalim lijekovima u bazi statistički je značajno različito u smjeru da nuspojave NSAR-a su značajno više ozbiljne u odnosu na nuspojave ostalih lijekova u bazi (54,9% vs.43,5%), a raste ukoliko se istovremeno koriste više NSAR istovremeno (54,9% odnosno 60,0% svih prijavljenih nuspojava). Vidi tablicu 14.

**Tablica 14.**

**NSAR \* Ozbiljnost Crosstabulation**

			Ozbiljnost		UKUPNO
			NE	DA	
NSAR	.00	Broj	2649	1642	4291
		Očekivani broj	2613.0	1678.0	4291.0
		% unutar NSAR	61.7%	38.3%	100.0%
1.00	Broj	347	267	614	
	Očekivani broj	373.9	240.1	614.0	
	% unutar NSAR	56.5%	43.5%	100.0%	
2.00	Broj	23	28	51	
	Očekivani broj	31.1	19.9	51.0	
	% unutar NSAR	45.1%	54.9%	100.0%	
3.00	Broj	2	3	5	
	Očekivani broj	3.0	2.0	5.0	
	% unutar NSAR	40.0%	60.0%	100.0%	
Total	Broj	3021	1940	4961	
	Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0	
	% unutar NSAR	60.9%	39.1%	100.0%	

**Chi-kvadrat test**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	12.477 <sup>a</sup>	3	0.006
Likelihood Ratio	12.234	3	0.007
N of Valid Cases	4961		

*a. 2 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.96.*

### 5.1.1.2. BLOKATORI ANGIOTENZINSKIH RECEPTORA (SARTANI)

U grupi lijekova sartani prema ostalim lijekovima u bazi oko 40% svih prijava su ozbiljne nuspojave, što se ne razlikuje statistički prema ostalim lijekovima u bazi.

**Tablica 15.**

**SARTANI \* Ozbiljnost Crosstabulation**

			Ozbiljnost		UKUPNO
			NE	DA	
SARTANI	.00	Broj	2891	1858	4749
		Očekivani broj	2891.9	1857.1	4749.0
		% unutar SARTANI	60.9%	39.1%	100.0%
1.00		Broj	123	79	202
		Očekivani broj	123.0	79.0	202.0
		% unutar SARTANI	60.9%	39.1%	100.0%
2.00		Broj	7	3	10
		Očekivani broj	6.1	3.9	10.0
		% unutar SARTANI	70.0%	30.0%	100.0%
Total		Broj	3021	1940	4961
		Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0
		% unutar SARTANI	60.9%	39.1%	100.0%

**Chi-kvadrat test**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	.349 <sup>a</sup>	2	0.840
Likelihood Ratio	.361	2	0.835
N of Valid Cases	4961		

*a. 1 cells (16.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.91.*

### 5.1.1.3. ORALNI ANTIDIJABETICI

Bez statistički značajne razlike i u grupi oralnih antidijabetika u ozbiljnosti prijava prema ostalim prijavama u bazi.

**Tablica 16.**

**ORALNI ANTIDIJABETIK \* Ozbiljnost Crosstabulation**

			Ozbiljnost		UKUPNO
			NE	DA	
ORALNI ANTIDIJABETIK	.00	Broj	2965	1909	4874
		Očekivani broj	2968.0	1906.0	4874.0
		% unutar ORALNI ANTIDIJABETIK	60.8%	39.2%	100.0%
	1.00	Broj	55	30	85
		Očekivani broj	51.8	33.2	85.0
		% unutar ORALNI ANTIDIJABETIK	64.7%	35.3%	100.0%
	2.00	Broj	1	1	2
		Očekivani broj	1.2	.8	2.0
		% unutar ORALNI ANTIDIJABETIK	50.0%	50.0%	100.0%
Total	Broj	3021	1940	4961	
	Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0	
	% unutar ORALNI ANTIDIJABETIK	60.9%	39.1%	100.0%	

#### Chi-kvadrat test

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	.626 <sup>a</sup>	2	0.731
Likelihood Ratio	.630	2	0.730
N of Valid Cases	4961		

a. 2 cells (33.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .78.

#### 5.1.1.4. BAKTERIOSTATICI

U skupini bakteriostatici također bez razlike o ozbiljnosti nuspojava prema ukupnom broju nuspojava u bazi koji iznosi oko 40% svih prijava.

**Tablica 17.**

**BAKTEROSTATICI \* Ozbiljnost Crosstabulation**

			Ozbiljnost		UKUPNO
			NE	DA	
BAKTEROSTATICI	.00	Broj	2973	1903	4876
		Očekivani broj	2969.2	1906.8	4876.0
		% unutar BAKTEROSTATICI	61.0%	39.0%	100.0%
	1.00	Broj	48	35	83
		Očekivani broj	50.5	32.5	83.0
		% unutar BAKTEROSTATICI	57.8%	42.2%	100.0%
	2.00	Broj	0	2	2
		Očekivani broj	1.2	.8	2.0
		% unutar BAKTEROSTATICI	.0%	100.0%	100.0%
Total	Broj	3021	1940	4961	
	Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0	
	% unutar BAKTEROSTATICI	60.9%	39.1%	100.0%	

#### Chi-kvadrat test

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3.454 <sup>a</sup>	2	0.178
Likelihood Ratio	4.092	2	0.129
N of Valid Cases	4961		

*a. 2 cells (33.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .78.*

### 5.1.1.5. UKUPNO LIJEKOVI SUPSTRATI CYP2C9

Ukupno promatrajući lijekove supstrate CYP2C9 prema ostalim lijekovima u bazi nuspojava imaju statistički značajno veći broj prijava koji su ocijenjeni kao ozbiljne, a povećanjem broja istovremeno uzetih lijekova koji su supstrati CYP2C9 broj ozbiljnih prijava također se povećava. Na primjer, u 151 prijava kada je pacijent uzimao istovremeno 2 lijeka supstrata CYP2C9 oko 56% prijava je bilo ozbiljno, tj. njih 84 prijava, dok bi očekivani broj bio 59 ( $p < 0,05$ ). (Vidi i tablicu 18).

**Tablica 18.**

CYP2C9 * Ozbiljnost Crosstabulation					
			Ozbiljnost		UKUPNO
			NE	DA	
CYP2C9	.00	Broj	2378	1416	3794
		Očekivani broj	2310.4	1483.6	3794.0
		% unutar CYP2C9	62.7%	37.3%	100.0%
	1.00	Broj	564	428	992
		Očekivani broj	604.1	387.9	992.0
		% unutar CYP2C9	56.9%	43.1%	100.0%
	2.00	Broj	67	84	151
		Očekivani broj	92.0	59.0	151.0
		% unutar CYP2C9	44.4%	55.6%	100.0%
3.00	Broj	11	10	21	
	Očekivani broj	12.8	8.2	21.0	
	% unutar CYP2C9	52.4%	47.6%	100.0%	
4.00	Broj	1	2	3	
	Očekivani broj	1.8	1.2	3.0	
	% unutar CYP2C9	33.3%	66.7%	100.0%	
Total	Broj	3021	1940	4961	
	Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0	
	% unutar CYP2C9	60.9%	39.1%	100.0%	

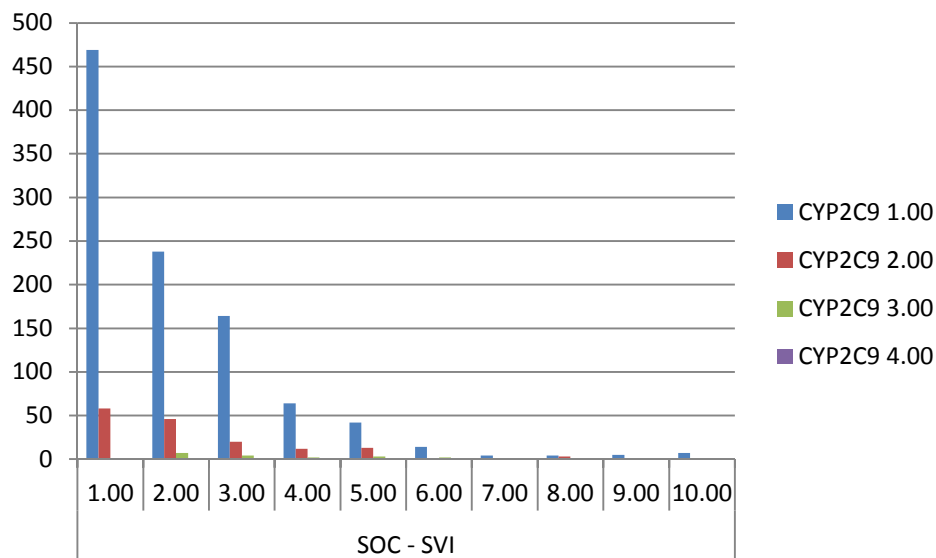
#### Chi-kvadrat test

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	30.775 <sup>a</sup>	4	0.0004
Likelihood Ratio	30.166	4	0.0004
N of Valid Cases	4961		

*a. 2 cells (20.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.17.*

Ukupno promatrajući lijekove supstrate CYP2C9 prema ostalim lijekovima u bazi nuspojava imaju statistički značajno veći broj prijava koji su ocijenjeni kao ozbiljne, a povećanjem broja istovremeno uzetih lijekova koji su supstrati CYP2C9 broj ozbiljnih prijava također se povećava. Na primjer, u 151 slučajeva kada je pacijent uzimao istovremeno 2 lijeka supstrata CYP2C9 oko 56% prijava je bilo ozbiljno, tj. njih 84 prijava, dok bi očekivani broj bio 59 ( $p < 0,05$ ). (Vidi i tablicu 18).

**Slika 10.** Broj nuspojava u odnosu na istovremeni broj uzetih lijekova koji su supstrat CYP2C9



**Chi-kvadrat test**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	130.752 <sup>a</sup>	27	0.000
Likelihood Ratio	54.086	27	0.001
Linear-by-Linear Association	17.055	1	0.000
N of Valid Cases	1188		

*a. 25 cells (62.5%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .01.*



Slika 10. Prikazuje broj nuspojava po prijavi u odnosu na broj istovremeno uzetih lijekova koji su supstrati CYP2C9. Što je veći broj istovremeno uzetih lijekova supstrata CYP2C9 veći broj nuspojava po prijavi (maksimalni broj nuspojava za jednu prijavu je 10, a maksimalni broj istovremeno uzetih lijekova supstrata CYP2C9 je 4), što je statistički značajno ( $p < 0,05$ ). Najveći broj prijavi imalo je samo jedan lijek supstrata CYP2C9 koji u najvećem broju slučajeva imalo jednu opisanu nuspojavu.

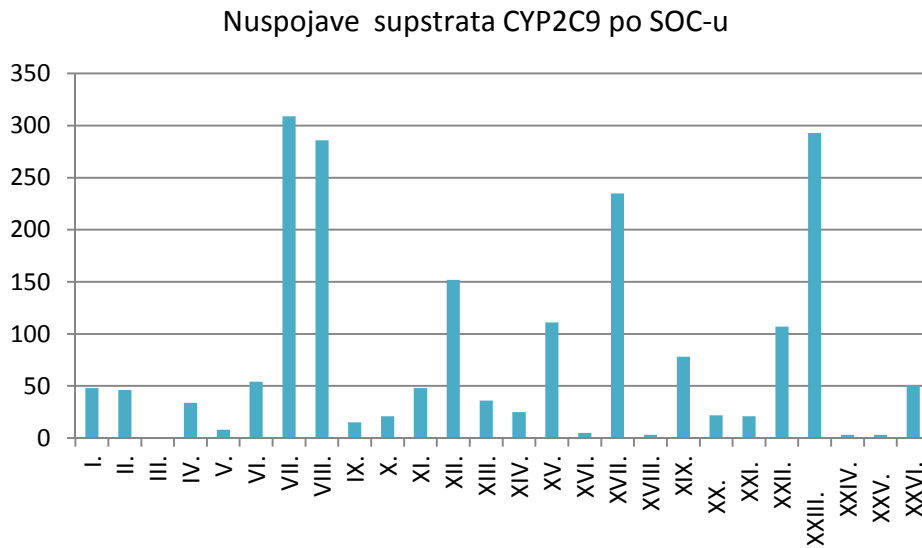
Prijave nuspojava koje su upisane u Nacionalnu bazu i ocjenjene od strane stručnjaka Agencije za lijekove i medicinske proizvode kodirane su po Medicinskom rječniku za regulatorne poslove (MedDRA) koji je važeći rječnik za kodiranje nuspojava (vidi tablicu 19).

## **Tablica 19.**

### **Klasifikacija organskih sustava (SOC) prema MedDRA-i:**

- I. Poremećaji krvi i limfnog sustava
- II. Srčani poremećaji
- III. Prirođeni, obiteljski i genetski poremećaji
- IV. Poremećaji uha i labirinta
- V. Endokrini poremećaji
- VI. Poremećaji oka
- VII. Poremećaji probavnog sustava
- VIII. Opći poremećaji i reakcije na mjestu primjene
- IX. Poremećaji jetre i žuči
- X. Poremećaji imunološkog sustava
- XI. Infekcije i infestacije
- XII. Pretrage
- XIII. Ozljede, trovanja i proceduralne komplikacije
- XIV. Poremećaji metabolizma i prehrane
- XV. Poremećaji mišićno-koštanog sustava i vezivnog tkiva
- XVI. Dobročudne, zloćudne i nespecificirane novotvorine (uključujući ciste i polipe)
- XVII. Poremećaji živčanog sustava
- XVIII. Stanja vezana uz trudnoću, babinje i perinatalno razdoblje
- XIX. Psihijatrijski poremećaji
- XX. Poremećaji bubrega i mokraćnog sustava
- XXI. Poremećaji reproduktivnog sustava i dojki
- XXII. Poremećaji dišnog sustava, prsišta i sredoprsja
- XXIII. Poremećaji kože i potkožnog tkiva
- XXIV. Socijalne okolnosti
- XXV. Operativni i medicinski postupci
- XXVI. Krvožilni poremećaji

**Slika 11.**



Najveći broj nuspojava supstrata CYP2C9 su nuspojave koje spadaju u SOC-ove „Poremećaji probavnog sustava (VII)“ i „Opći poremećaji i reakcije na mjestu primjene (VIII)“, te „Poremećaji kože i potkožnog tkiva (XXIII)“ i „Poremećaji živčanog sustava“ (XVII). Što je veći broj lijekova supstrata CYP2C9 u istovremenoj primjeni veći je broj nuspojava poremećaja probavnog trakta te značajno više ulaze u ozbiljne nuspojave, što je i statistički značajno različito ( $p < 0,006$ ) (Slika 11).

### 5.1.2. Supstrati CYP2C9 i transportnog proteina Pgp

U periodu od 10.03.2005. do 31.12.2010. 812 prijava sadrži 1 lijek supstrat CYP2C9, u 121 prijave dva lijeka supstrata, u 16 prijave tri lijeka, a u 5 prijava 4 lijeka supstrata CYP2C9 i transportnog proteina Pgp, što čini ukupno 18,8% svih prijava za lijekove (Tablica 20).

**Tablica 20.**

CYP2C9 i PGP					
		Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Validno	1.00	812	16.0	85.1	85.1
	2.00	121	2.4	12.7	97.8
	3.00	16	0.3	1.7	99.5
	4.00	5	0.1	.5	100.0
	<b>Ukupno</b>	<b>954</b>	<b>18.8</b>	<b>100.0</b>	
Ostali	.00	4108	81.2		
Ukupno		5062	100.0		

Supstrati CYP2C9 i transportnog proteina Pgp koji su uzeti za analizu su lijekovi čiji je klirens preko navedenog enzima veći od 10%, odnosno u razmatranje su uzeti i oni čiji je klirens putem CYP2C9 između 5 i 10% a radi se o lijekovima koji se često koriste u kombinaciji s drugim lijekovima istovremeno. Kao i za lijekove supstrata CYP2C9 radi se o lijekovima koji su odobreni u Republici Hrvatskoj, nalaze se na tržištu i koji imaju prijavljene nuspojave u razdoblju od 2005. do 2011. godine (Tablica 21).

**Tablica 21.**

Supstrati CYP2C9 i transportnog proteina Pgp koji su pretraživani u Nacionalnoj bazi nuspojava lijekova (VigiFlow)

Supstrat CYP2C9 i Pgp	Ključne riječi (pojmovi) pretraživanja
Amiodaron	Amiodarone hydrochloride Amiodarone
Fenitoin	Phenytoin
Fenobarbiton	Phenobarbital sodium Methylphenobarbital
Ciklofosfamid	Cyclophosphamide monohydrate Cyclophosphamide/Prednisolone/Vincristine/Doxorubicin
Fluvastatin	Fluvastatin sodium Fluvastatin
Verapamil	Verapamil hydrochloride/Trandolapril Verapamil Verapamil/Trandolapril Verapamil hydrochloride
Varfarin	Warfarin sodium Warfarin
Alprazolam	Alprazolam
Diazepam	Diazepam
Fluoksetin	Fluoxetine Fluoxetine hydrochloride
Venlafaksin	Venlafaxine hydrochloride
Imatinib	Imatinib mesilate Imatinib

Podjela prijava po spolu pokazuje da je 60,9% svih nuspojava za lijekove supstrate CYP2C9 i transportnog proteina Pgp u Republici Hrvatskoj zabilježeno u žena, što nije statistički značajno različito prema ostalim zabilježenim nuspojavama lijekova u bazi (63,6%,  $p > 0,05$ ).

Broj lijekova u istovremenoj primjeni u 954 prijave koji imaju lijek supstrata CYP2C9 i transportnog proteina Pgp kreće se od 1 do 19. 8,4% (N=81) ispitanika koristila je samo lijek koji je supstrat CYP2C9 i transportnog proteina Pgp. U 9 prijava s dva lijeka oba su bila supstrati CYP2C9 i transportnog proteina Pgp, što čini 7,4% lijekova svih prijava s dva lijeka od kojih je barem jedan lijek supstrat CYP2C9 i transportnog proteina Pgp. U ostalim prijavama lijekovi supstrata CYP2C9 i transportnog proteina Pgp uzimani su u kombinacijama s drugim lijekovima.

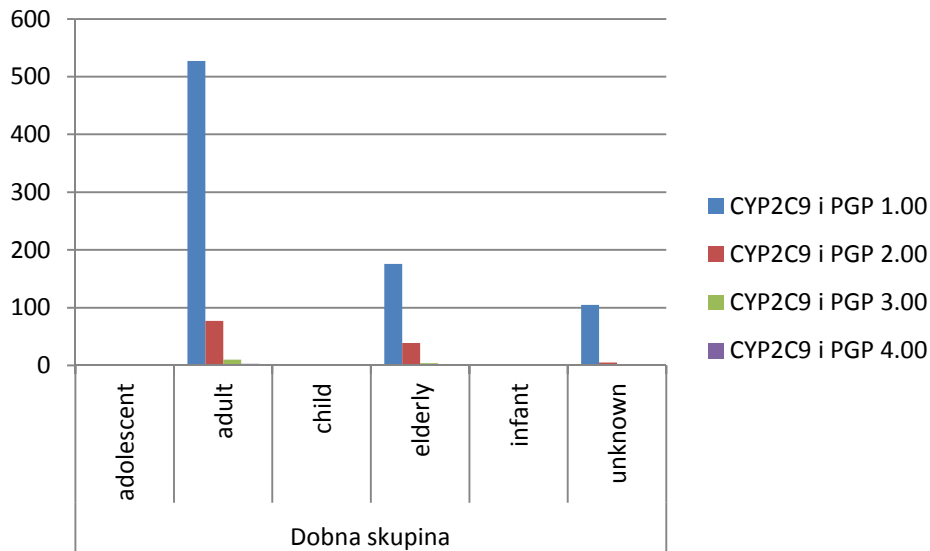
**Tablica 22.****CYP2C9 \* CYP2C9 i Pgp Crosstabulation**

		CYP2C9 i Pgp				Ukupno
		1.00	2.00	3.00	4.00	
CYP2C9	1.00	171	22	3	0	196
	2.00	28	7	2	1	38
	3.00	5	0	1	0	6
	4.00	0	1	0	1	2
Ukupno		204	30	6	2	242

Tablica 22. prikazuje kombinacije lijekova u prijavama koje su bolesnici uzimali a svi su supstrati CYP2C9 u kombinaciji s lijekovima koji su istovremeno i supstrati transportnog proteina Pgp-a. U usporedbi s ozbiljnošću nuspojava za ove kombinacije nema statistički značajne razlike u smislu da su prijave s više kombinacija CYP2C9 supstrata ozbiljnije u usporedbi s onim prijavama gdje se radi samo o kombinaciji jednog lijeka CYP2C9 i CYP2C9 i Pgp-a. U najvećem broju prijave (171) radi se o kombinaciji jednog lijeka supstrata CYP2C9 i CYP2C9 i transportnog proteina Pgp.

U odnosu na dobnu skupinu u kojoj se pojavljuju nuspojave lijekova supstrata CYP2C9 i transportnog proteina Pgp statistički značajno se najviše pojavljuju u odraslih (N=617,  $p < 0,001$ ). Vidi sliku 12.

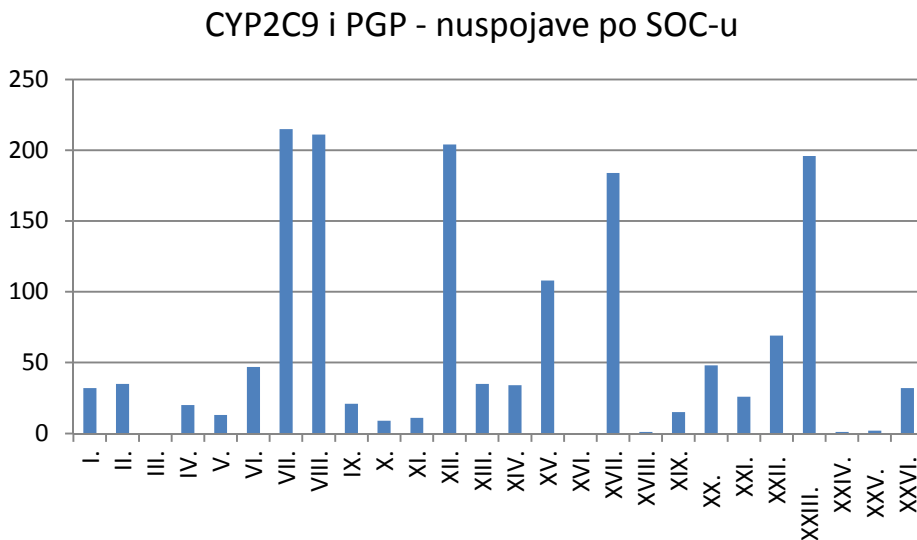
**Slika 12.** Raspodjela broja prijava po dobnim skupinama (adolescenti, odrasli, djeca, stariji, dojenčad te nepoznata dobna skupina) po broju 1, 2, 3 ili 4 istovremeno uzimanih lijekova koji su supstrati CYP2C9 i transportnog proteina Pgp



U analizi broja nuspojava u skupini supstrata CYP2C9 i transportnog proteina Pgp vidljivo je da je najveći broj prijava s jednom nuspojavom (395). Broj prijava s dvije odnosno 3 prijave slijede redoslijedom od 247 odnosno 142 prijave. Najveći broj od 10 nuspojava prijavljenih u jednoj prijavi nađeno je u 8 slučajeva supstrata CYP2C9 i transportnog proteina Pgp.

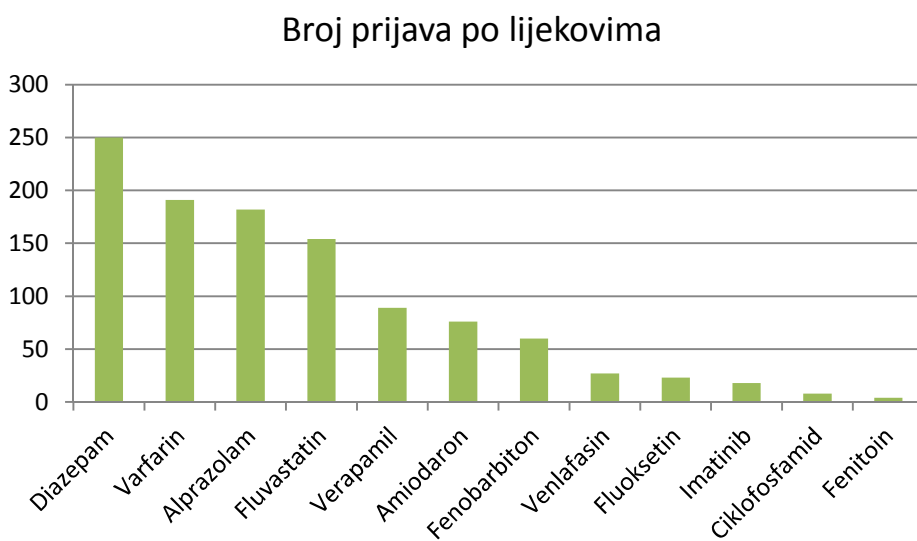
Najveći broj prijava u čitavoj grupi lijekova supstrata CYP2C9 i transportnog proteina Pgp nađeno je u SOC-u VII „Poremećaji probavnog sustava“, a slijedi ga vrlo blizu SOC VIII „Opći poremećaji i reakcije na mjestu primjene“. Na trećem mjestu je SOC XII „Poremećaji živčanog sustava“, SOC XXIII „Poremećaji kože i potkožnog tkiva“. Distribucija po spolu i dobnim skupinama jednaka je onoj u čitavoj bazi u korist žena i odraslih pacijenata.

**Slika 13.**



Slika 14. prikazuje broj prijava po aktivnoj supstanci koji pripadaju supstratu CYP2C9 i transportnog proteina Pgp. Najveći broj prijava (250) zaprimljenih je za benzodiazepin diazepam. Na drugom mjestu nalazi se varfarin, kojeg slijedi još jedan benzodiazepin, te statin fluvastatin. Za sve navedene lijekove broj prijava u Nacionalnoj bazi nuspojave veći je od 150, dok za ostale je manje od 100 odnosno za zadnja 5 lijekova manje od 30 prijava.

**Slika 14.**





### 5.1.2.1. DIAZEPAM

Najveći broj prijava zabilježen je za diazepam koji u odnosu na ostale prijave u bazi statistički značajno ima veći broj ozbiljnih nuspojava nego što se očekuje prema ostalim lijekovima, te ona raste s brojem istovremeno uzetih lijekova s aktivnom supstancom diazepam ( $p < 0,002$ ). Vidi tablicu 23.

**Tablica 23.**

**Diazepam \* Ozbiljnost Crosstabulation**

			Ozbiljnost		UKUPNO
			NE	DA	
Diazepam	.00	Broj	2897	1820	4717
		Očekivani broj	2872.4	1844.6	4717.0
		% unutar Diazepam	61.4%	38.6%	100.0%
1.00	Broj	123	114	237	
	Očekivani broj	144.3	92.7	237.0	
	% unutar Diazepam	51.9%	48.1%	100.0%	
2.00	Broj	1	5	6	
	Očekivani broj	3.7	2.3	6.0	
	% unutar Diazepam	16.7%	83.3%	100.0%	
3.00	Broj	0	1	1	
	Očekivani broj	0.6	0.4	1.0	
	% unutar Diazepam	0%	100.0%	100.0%	
Total	Broj	3021	1940	4961	
	Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0	
	% unutar Diazepam	60.9%	39.1%	100.0%	

**Chi-kvadrat test**

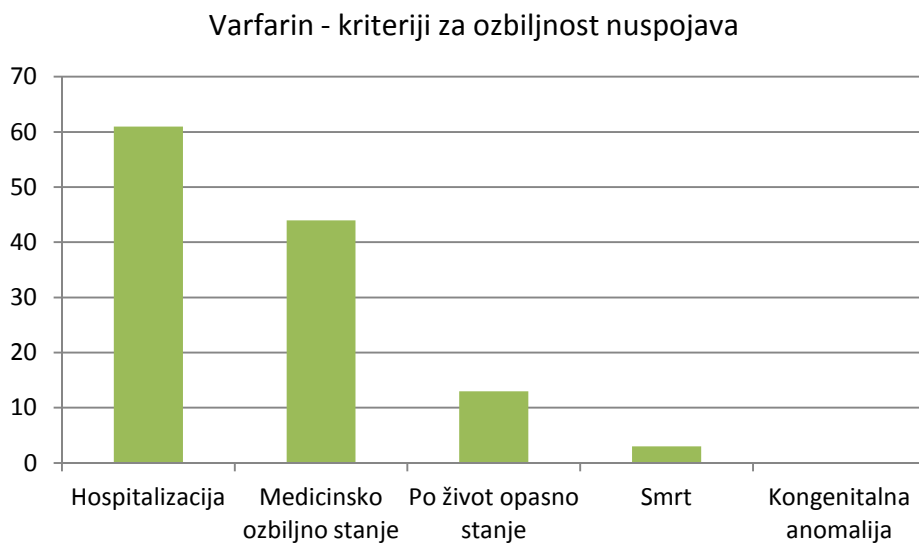
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	15.079 <sup>a</sup>	3	0.002
Likelihood Ratio	15.276	3	0.002
N of Valid Cases	4961		

*a. 4 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .39.*

### 5.1.2.2. VARFARIN

Drugi lijek s najviše prijava nuspojava u ovoj skupini je varfarin. Analizom nuspojava prema ozbiljnosti također se nalazi statistički značajno veći broj ozbiljnih nuspojava za varfarin u odnosu na ostale lijekove u čitavoj bazi ( $p < 0.00001$ ). Ozbiljnih prijava nuspojave u bazi u odnosu prema varfarinu je 38,5%, dok je odnos ozbiljnih nuspojava u prijavama varfarina prema ne-ozbiljnima (54,6% vs 45,4%). Iz analize je vidljivo da je u 10 prijava bolesnik uzimao istovremeno dva lijeka s aktivnom supstancom varfarin, a u 1 slučaju čak tri lijeka istovremeno! Udio ozbiljnih prijava nuspojave u prijavama gdje je bolesnik uzimao istovremeno dva lijeka s aktivnom tvari varfarin je čak 80%! Od kriterija ozbiljnosti na prvom mjestu je hospitalizacija zbog nuspojave varfarina, slijedi drugo medicinsko ozbiljno stanje (krvarenje), te po život opasno stanje. Prijavljene su i tri prijave gdje je ishod nuspojave bila smrt. Vidi Tablicu 24 i sliku 15.

Slika 15.



**Tablica 24.****Varfarin \* Ozbiljnost Crosstabulation**

			Ozbiljnost		UKUPNO
			NE	DA	
Varfarin	.00	Broj	2939	1837	4776
		Očekivani broj	2908.3	1867.7	4776.0
		% unutar Varfarin	61.5%	38.5%	100.0%
1.00	Broj	79	95	174	
	Očekivani broj	106.0	68.0	174.0	
	% unutar Varfarin	45.4%	54.6%	100.0%	
2.00	Broj	2	8	10	
	Očekivani broj	6.1	3.9	10.0	
	% unutar Varfarin	20.0%	80.0%	100.0%	
3.00	Broj	1	0	1	
	Očekivani broj	0.6	0.4	1.0	
	% unutar Varfarin	100.0%	0%	100.0%	
Total	Broj	3021	1940	4961	
	Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0	
	% unutar Varfarin	60.9%	39.1%	100.0%	

**Chi-kvadrat test**

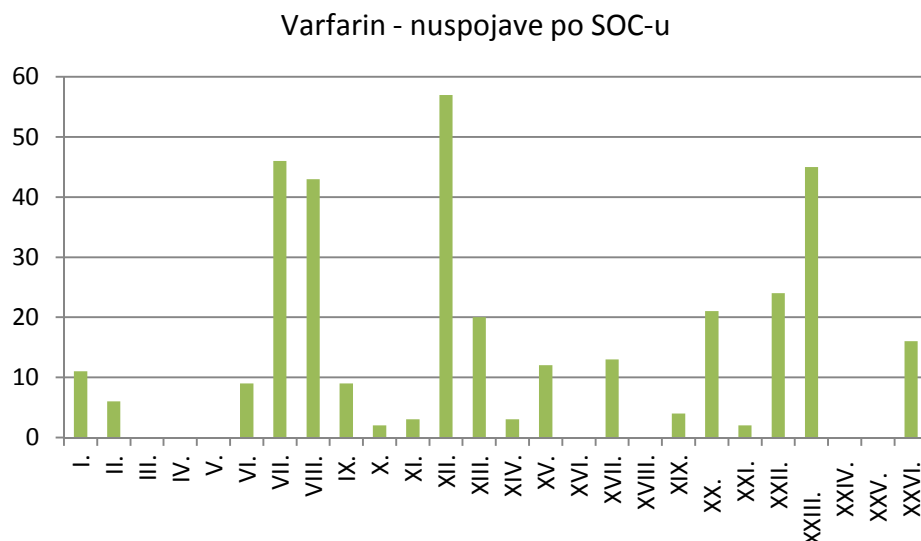
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	26.030 <sup>a</sup>	3	0.00001
Likelihood Ratio	25.843	3	0.00001
N of Valid Cases	4961		

*a. 3 cells (37.5%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .39.*

Najveći broj nuspojava varfarina spada u SOC „Pretrage“ jer se u prijavama navode poremećaji parametara koagulacije, tj. produženo protrombinsko vrijeme (PV), odnosno visoki INR. Nuspojave varfarina su nuspojave koje spadaju u organski sustav - SOC „Poremećaji probavnog sustava“ i ovdje se prvenstveno radi o krvarenju u gastrointestinalni trakt (krvarenje, melena). Nuspojave „Poremećaji probavnog sustava“ u odnosu na ostale nuspojave varfarina u više su slučajeva ozbiljni (u 29 od 46 prijava) a što je statistički značajno različito. Također, nuspojave „Poremećaji probavnog sustava“ kod ostalih lijekova u bazi manje često su ozbiljne u odnosu na one koje se javljaju kod varfarina ( $p < 0.014$ ). Ove nuspojave slijede nuspojave iz SOC-eva „Opći poremećaji i reakcije na mjestu primjene“ te „Poremećaji kože i

potkožnog tkiva“ a u što spadaju krvarenja u kožu isl. Slika 16. prikazuje nuspojave varfarina po organskim sustavima (vidi i tablicu 19 za potpuni naziv pojedinog organskog sustava – SOC).

**Slika 16.**



### 5.1.2.3. FLUVASTATIN

Jedini statin koji se metabolizira svojim najvećim dijelom preko CYP2C9 enzima i istovremeno je i supstrat transportnog proteina Pgp je fluvastatin. Nalazi se na četvrtom mjestu po broju prijava nuspojava u Nacionalnoj bazi nuspojava lijekova. Prema ozbiljnosti nuspojava u odnosu na druge lijekove u bazi nema statistički značajne razlike, s oko 32% ozbiljnih nuspojava za lijek fluvastatin uz tendenciju većeg broja ozbiljnih nuspojava u slučaju istovremenog uzimanja više lijekova koji sadrže aktivnu supstancu fluvastatin a što je nađeno u 4 prijave nuspojava (Tablica 25). Najveći broj nuspojava fluvastatina grupiraju se u SOC-u „Pretrage“ iz razloga jer su navedeni poremećaji u vrijednostima CPK, te nuspojave SOC-a „Mišićno-koštani poremećaji“ sa 46 prijave od kojih su 22 ozbiljne. U odnosu na ostale nuspojave iz ovog SOC-a u bazi koji iznosi 444 prijave to čini 10,8% ozbiljnih nuspojava što nije različito prema ozbiljnosti ovih nuspojava u ukupnoj Bazi nuspojava lijekova (Vidi i sliku 17). Po kriterijima ozbiljnosti na prvom mjestu su druga medicinska stanja, a slijede ih hospitalizacije. Također su prijavljene dvije smrti kao ishod nuspojave fluvastatina (Slika 14). Što se raspodjele spola tiče ono iznosi 57,1% u korist žena, što je raspodjela koja nije različita

prema onoj koja se nalazi u čitavoj bazi nuspojava lijekova. Raspodjela po dobi također prati trend raspodjele u čitavoj bazi, a to znači oko 60% prijava učinjeno je za odrasle pacijente u dobi od 17 do 69 godina života.

**Tablica 25.**

**Fluvastatin \* Ozbiljnost Crosstabulation**

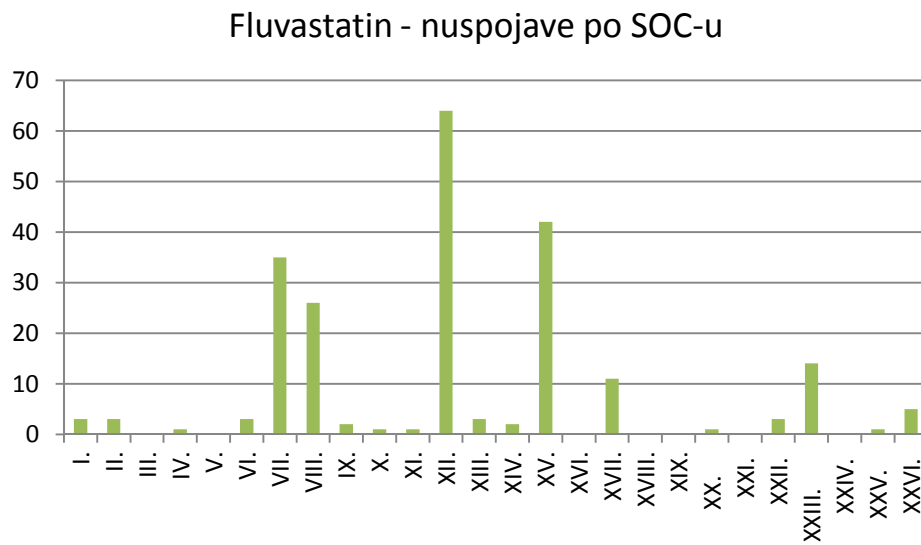
			Ozbiljnost		UKUPNO
			NE	DA	
Fluvastatin	.00	Broj	2918	1890	4808
		Očekivani broj	2927.8	1880.2	4808.0
		% unutar Fluvastatin	60.7%	39.3%	100.0%
	1.00	Broj	102	47	149
		Očekivani broj	90.7	58.3	149.0
		% unutar Fluvastatin	68.5%	31.5%	100.0%
	2.00	Broj	1	3	4
		Očekivani broj	2.4	1.6	4.0
		% unutar Fluvastatin	25.0%	75.0%	100.0%
Total		Broj	3021	1940	4961
		Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0
		% unutar Fluvastatin	60.9%	39.1%	100.0%

**Chi-Square Tests**

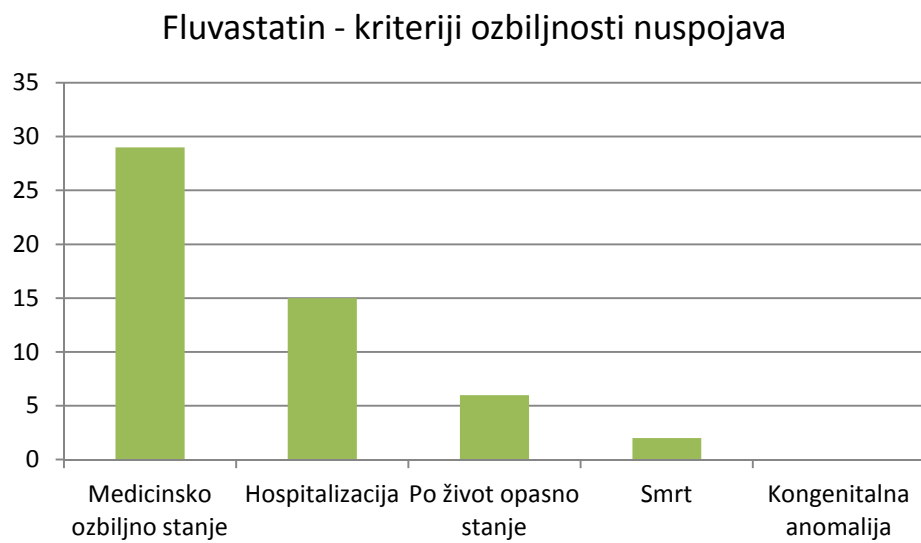
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5.826 <sup>a</sup>	2	0.054
Likelihood Ratio	5.890	2	0.053
N of Valid Cases	4961		

*a. 2 cells (33.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.56.*

Slika 17.



Slika 18.



#### 5.1.2.4. ANTIEPILEPTICI

Promatrajući grupu antiepileptika u koju su uključeni fenitoin i fenobarbiton nema statistički značajne razlike u ozbiljnosti prijavljenih nuspojava u odnosu prema ostalim lijekovima u bazi, i iznosi oko 40% prijavljenih nuspojava za antiepileptike.

**Tablica 26.**

**ANTIEPILEPTICI \* Ozbiljnost Crosstabulation**

			Ozbiljnost		Ukupno
			NE	DA	
ANTIEPILEPTICI	.00	Broj	2986	1915	4901
		Očekivani broj	2984.5	1916.5	4901.0
		% unutar ANTIEPILEPTICI	60.9%	39.1%	100.0%
	1.00	Broj	34	24	58
		Očekivani broj	35.3	22.7	58.0
		% unutar ANTIEPILEPTICI	58.6%	41.4%	100.0%
	2.00	Broj	1	0	1
		Očekivani broj	0.6	0.4	1.0
		% unutar ANTIEPILEPTICI	100.0%	.0%	100.0%
3.00	Broj	0	1	1	
	Očekivani broj	0.6	0.4	1.0	
	% unutar ANTIEPILEPTICI	0%	100.0%	100.0%	
Ukupno	Broj	3021	1940	4961	
	Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0	
	% unutar ANTIEPILEPTICI	60.9%	39.1%	100.0%	

#### Chi-kvadrat test

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2.327 <sup>a</sup>	3	0.507
Likelihood Ratio	2.997	3	0.392
N of Valid Cases	4961		

*a. 4 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .39.*

### 5.1.2.5. BENZODIAZEPINI

U grupi benzodiazepina koje obuhvaćaju diazepam i alprazolam koji su se nalaze u prva tri najviše prijavljivanih nuspojava lijekova iz skupine supstrata CYP2C9 i transportnog proteina Pgp, nalazimo da broj ozbiljnih nuspojava prema ostalim prijavama u bazi nije statistički značajno veće (Tablica 27). Također se radi o oko 40% nuspojava koji se smatraju ozbiljnima.

**Tablica 27.**

**BENZODIAZEPINI \* Ozbiljnost Crosstabulation**

			Ozbiljnost		Ukupno
			NE	DA	
BENZODIAZEPINI	.00	Broj	2787	1758	4545
		Očekivani broj	2767.7	1777.3	4545.0
		% unutar BENZODIAZEPINI	61.3%	38.7%	100.0%
	1.00	Broj	226	172	398
		Očekivani broj	242.4	155.6	398.0
		% unutar BENZODIAZEPINI	56.8%	43.2%	100.0%
	2.00	Broj	8	9	17
		Očekivani broj	10.4	6.6	17.0
		% unutar BENZODIAZEPINI	47.1%	52.9%	100.0%
3.00	Broj	0	1	1	
	Očekivani broj	0.6	0.4	1.0	
	% unutar BENZODIAZEPINI	.0%	100.0%	100.0%	
Ukupno	Broj	3021	1940	4961	
	Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0	
	% unutar BENZODIAZEPINI	60.9%	39.1%	100.0%	

**Chi-kvadrat test**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	6.094 <sup>a</sup>	3	0.107
Likelihood Ratio	6.345	3	0.096
N of Valid Cases	4961		

*a. 2 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .39.*



### 5.1.3. Ukupno - supstrati CYP2C9 i supstrati CYP2C9 koji su ujedno i supstrati transportnog proteina Pgp

U ovom odlomku prikazani su ukupni rezultati za lijekove koji su u oba slučaja supstrati CYP2C9, a prijavljene su nuspojave u Nacionalnoj bazi nuspojava lijekova. Radi se o skupini lijekova opisanih u prethodna dva odlomka (vidi 5.1.1. i 5.1.2.). Distribucija nuspojava po spolu i dobnoj skupini je u korelaciji s onom u cijeloj bazu i iznosi kao i za ostale lijekove i pojedinačne skupine oko 60% žena i odraslih.

Tablica 28. prikazuje odnos ozbiljnih nuspojava iz ove skupine u odnosu na ostale lijekove iz Nacionalne baze nuspojava za razdoblje 2005. – 2011. Za cijelu skupinu lijekova koji su supstrati CYP2C9 iskazuje statistički značajna razlika između broja ozbiljnih nuspojava koje se očekuju za ovu skupinu u odnosu na cjelokupnu bazu, tj. broj ozbiljnih nuspojava je viši za ovu skupinu nego što je za očekivati. Pokazuje se trend povećanja broja ozbiljnih nuspojava u odnosu na broj istovremeno uzetih lijekova koji su supstrati CYP2C9 (jedna prijava ima 8 lijekova koji bili istovremeno uzeti a supstrati su CYP2C9!)

**Tablica 28.**

			Ozbiljnost		Ukupno
			NE	DA	
CYP2C9 i PGP & CYP2C9	.00	Broj	1964	1113	3077
		Očekivani broj	1873.7	1203.3	3077.0
		% unutar CYP2C9 i PGP & CYP2C9	63.8%	36.2%	100.0%
1.00		Broj	828	600	1428
		Očekivani broj	869.6	558.4	1428.0
		% unutar CYP2C9 i PGP & CYP2C9	58.0%	42.0%	100.0%
2.00		Broj	191	174	365
		Očekivani broj	222.3	142.7	365.0
		% unutar CYP2C9 i PGP & CYP2C9	52.3%	47.7%	100.0%
3.00		Broj	32	39	71
		Očekivani broj	43.2	27.8	71.0
		% unutar CYP2C9 i PGP & CYP2C9	45.1%	54.9%	100.0%
4.00		Broj	5	10	15

	Očekivani broj	9.1	5.9	15.0
	% unutar CYP2C9 i PGP & CYP2C9	33.3%	66.7%	100.0%
5.00	Broj	1	1	2
	Očekivani broj	1.2	.8	2.0
	% unutar CYP2C9 i PGP & CYP2C9	50.0%	50.0%	100.0%
6.00	Broj	0	2	2
	Očekivani broj	1.2	0.8	2.0
	% unutar CYP2C9 i PGP & CYP2C9	0%	100.0%	100.0%
8.00	Broj	0	1	1
	Očekivani broj	0.6	0.4	1.0
	% unutar CYP2C9 i PGP & CYP2C9	0%	100.0%	100.0%
Total	Broj	3021	1940	4961
	Ukupni broj	3021.0	1940.0	4961.0
	% unutar CYP2C9 i PGP & CYP2C9	60.9%	39.1%	100.0%

#### Chi-Square Tests

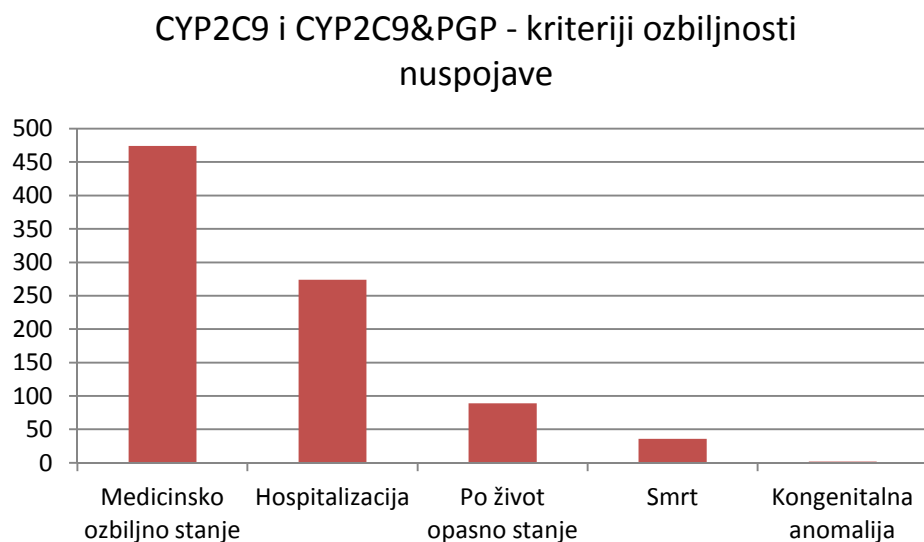
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	44.474 <sup>a</sup>	7	0.000001
Likelihood Ratio	44.907	7	0.000001
N of Valid Cases	4961		

*a. 6 cells (37.5%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .39.*

Slika 19. Prikazuje raspodjelu kriterija ozbiljnosti za ukupni broj lijekova koji spadaju u grupu supstrata CYP2C9. Na prvom mjestu se nalazi medicinsko ozbiljno stanje tj. kategorija „ostalo“, a slijedi je kriterij hospitalizacija. U odnosu na druge lijekove u bazi koji imaju kategoriju ozbiljnosti na temelju kriterija „hospitalizacija“ analiza je pokazala da nuspojave iz ove skupine gdje lijek koji je supstrat CYP2C9 ima značajno više nuspojava koje su završile hospitalizacijom (274)u odnosu na broj prijava prema ukupnim prijavama za sve ostale lijekove u Bazi (335), a povećava se brojem istovremeno uzetih lijekova iz ove skupine ( $p < 0,01$ ). Za ostale kate-

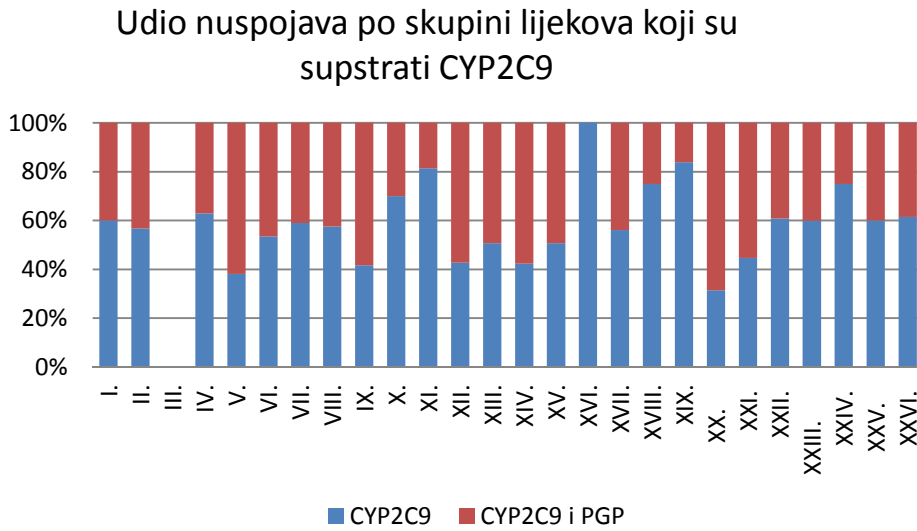
gorije ozbiljnosti ova grupa ima distribuciju kategorija kao i ostali lijekovi u Bazi. U 39 prijava nuspojava je završila smrtnim ishodom u ovoj skupini lijekova.

**Slika 19.**

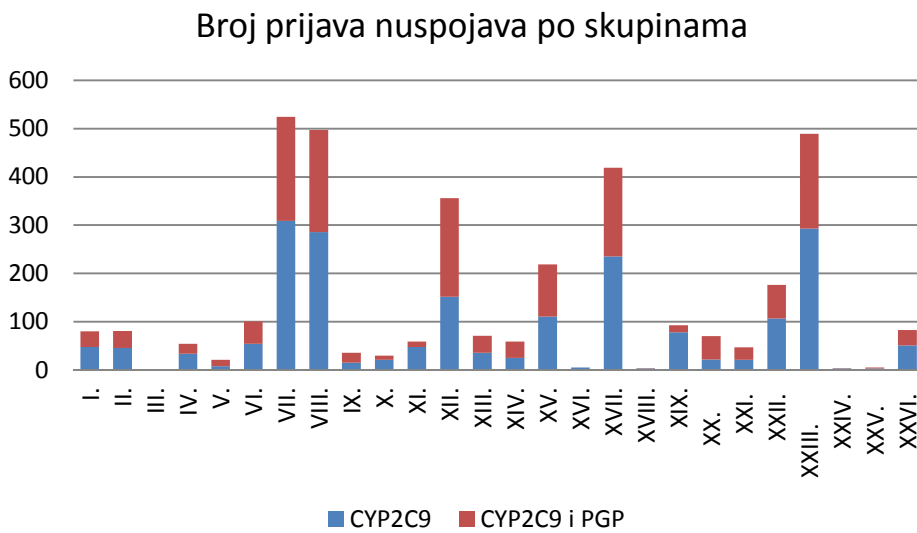


Za skupinu lijekova koji supstrati CYP2C9 nema nijedne zabilježene nuspojave koja spada u SOC III „Prirođeni, obiteljski i genetski poremećaji“. Vodeće nuspojave pripadaju i za cjelokupnu skupinu supstrata CYP2C9 u skupinu VII „Poremećaji probavnog sustava“, praćeni nuspojavama iz SOC-a „Opći poremećaji i reakcije na mjestu primjene“ i „Poremećaji kože i potkožnog tkiva“. Skoro jednaki udio u nuspojavama iz SOC-a XV. „Poremećaji mišićno-koštanog sustava i vezivnog tkiva“ imaju lijekovi iz obje skupine, te se ova skupina nuspojava pojavljuje nešto više u lijekova supstrata CYP2C9 u odnosu na ostale lijekove prijavljene u Bazi nuspojave lijekova ali bez statističke značajnosti.

Slika 20.



Slika 21.



#### 5.1.4. Supstrati transportnog proteina Pgp

U periodu od 10.03,2005. godine do 31.12.2011. godine u Nacionalnoj bazi nuspojave lijekova Agencije za lijekove i medicinske proizvode zaprimljeno je i obrađeno 1345 prijave nuspojave, s time da je zaprimljeno 1080 prijave s jednim lijekom koji je supstrat transportnog proteina Pgp, 234 s dva lijeka supstrata Pgp-a, 27 s tri, tri s 4 i jedan sa šest lijekova koji su supstrati Pgp-a. Vidi i tablicu 29.

**Tablica 29.**

Supstrati transportnog proteina Pgp					
		Frekvencija	Postotak	Validni postotak	Kumulativni postotak
Valid	.00	3717	73.4	73.4	73.4
	1.00	1080	21.3	21.3	94.8
	2.00	234	4.6	4.6	99.4
	3.00	27	0.5	0.5	99.9
	4.00	3	0.1	0.1	100.0
	6.00	1	0	0	100.0
	Ukupno	5062	100.0	100.0	

Tablica 30. prikazuje lijekove za koje je poznato da su supstrati transportnog proteina Pgp, a odobreni su lijekovi u Republici Hrvatskoj i za koje su prijavljene nuspojave u Nacionalnoj bazi nuspojava lijekova Agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) u periodu od 10.03.2005. do 31.12.2011. godine.

**Tablica 30.**

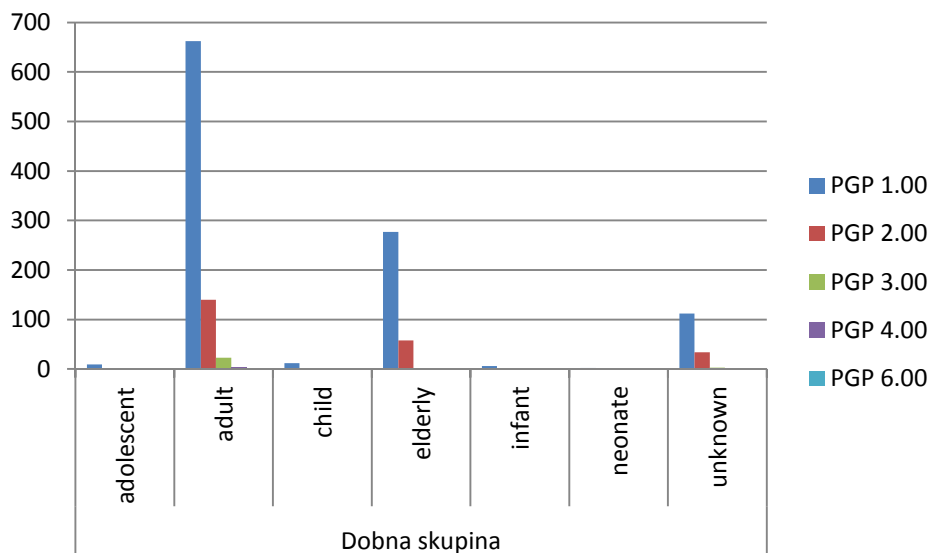
Supstrat Pgp-a	Ključne riječi (pojmovi) pretraživanja
Karbamazepin	Carbamazepine
	Oxcarbazepine
	Eslicarbazepine acetate
Lamotrigin	Lamotrigine
Flukonazol	Fluconazole
Klaritromicin	Clarithromycin
Rifampicin	Rifampicin
Doksorubicin	Doxorubicin hydrochloride
	Doxorubicin
	Cyclophosphamide/Prednisolone/Vincristine/Doxorubicin
Atorvastatin	Atorvastatin
	Atorvastatin calcium
Simvastatin	Simvastatin
Ciklosporin	Ciclosporin

Podjela prijava po spolu pokazuje da je 61,6% svih nuspojava za lijekove supstrata transportnog proteina Pgp zabilježeno u žena, što je u korelaciji s ostalim prijavama u Bazi.

Broj lijekova u istovremenoj primjeni u prijavama koji imaju supstrat transportnog proteina Pgp kreće se od 1 do 16, s tim da je 90% prijava do najviše 4 lijeka u istovremenoj prijavi. U 167 prijava nalazi se samo jedan lijek supstrat transportnog proteina Pgp, u 8 prijavi koji imaju dva lijeka u istovremenoj primjeni oba su supstrati transportnog proteina Pgp, u dvije prijave koji imaju tri lijeka u istovremenoj primjeni sva tri lijeka su supstrati Pgp, dok kod prijava s 4 istovremeno uzeta lijeka ima jedna prijava gdje su sva 4 lijeka supstrati Pgp.

U odnosu na dobnu skupinu kao i kod prethodnih skupina nuspojave se značajno više pojavljuju u dobnoj skupini odraslih (Slika 22).

**Slika 22.** Raspodjela broja prijava po dobnim skupinama (adolescenti, odrasli, djeca, stariji, dojenčad te nepoznata dobna skupina) po broju 1, 2, 3 ili 4 istovremeno uzimanih lijekova koji su supstrati transportnog proteina Pgp

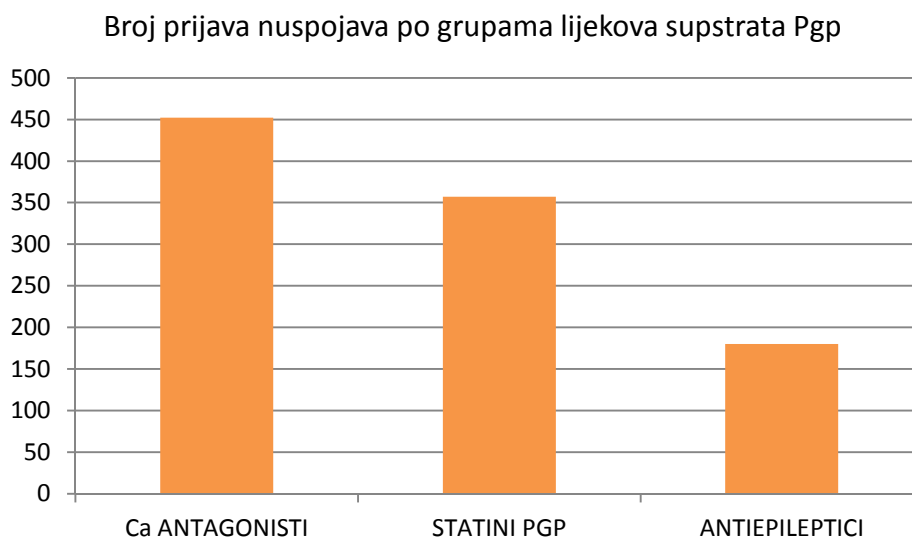


Slika 23. Prikazuje broj prijava po lijekovima supstrata transportnog proteina Pgp-a. Na prvom mjestu s najvećim brojem prijava po pojedinačnom lijeku uopće nalazi se amlodipin (416), a slijede ga dva statina – atorvastatin i simvastatin sa više od 250 prijava.

**Slika 23.**



**Slika 24.**



Promatrajući grupe lijekova kalcijevih antagonista (amlodipin, nifedipin), statina (atorvastatin i simvastatin), te antiepileptika (karbamazepin i lamotrigin) vodi grupa lijekova kalcijevih antagonista iz razloga što sam amlodipin ima kao pojedinačni lijek najveći broj prijava nuspojava.

#### 5.1.4.1. CIKLOSPORIN

Ciklosporin ukupno dolazi u 60 prijava nuspojava u ovoj grupi lijekova u usporedbi s drugim lijekovima spada u lijekove s umjerenim brojem prijava. S obzirom da se lijek daje kao imunosupresivna terapija u transplantiranih bolesnika analiziran je broj prijava s istovremenim davanjem statina kao supstrata transportnog proteina Pgp. Ciklosporin se nalazi 35 prijava u kombinaciji s fluvastatinom, od kojih su 15 ocjenjene kao ozbiljne, a u 11 prijava se radilo o nuspojavama iz SOC-a Poremećaji mišićno-koštanog sustava. Povećani broj ozbiljnih nuspojava u ovoj kombinaciji u odnosu na ostale lijekove u bazi je i statistički značajan ( $p < 0,01$ ), jer je očekivani broj prijava ozbiljnih nuspojava manji od jedne (0,8), a zapaženo ih je 15. Ciklosporin u odnosu s drugim statinima koji su supstrati Pgp-a (atorvastatin i simvastatin) se pojavljuju u svih 60 prijava za ciklosporin, od kojih je 31 prijava ozbiljna, a u 14 slučajeva prijavljena je nuspojava iz SOC-a Poremećaja mišićnog tkiva.



### 5.1.4.2. AMLODIPIN

Amlodipin je lijek s pojedinačno najviše prijavljenih nuspojava. U odnosu na ozbiljnost prijavljenih nuspojava za amlodipin iz analize je vidljivo da su nuspojave prijavljene za ovaj lijek u odnosu na ostale lijekove u bazi značajno manje ozbiljne. Samo 24% svih prijavljenih nuspojava u kojem je jedan lijek amlodipin ocjenjeno je kao ozbiljna nuspojava.

**Tablica 31.**

**Amlodipin \* Ozbiljnost Crosstabulation**

			Ozbiljnost		UKUPNO
			NE	DA	
Amlodipin	.00	Broj	2711	1840	4551
		Očekivani broj	2771.3	1779.7	4551.0
		% unutar Amlodipin	59.6%	40.4%	100.0%
	1.00	Broj	305	99	404
		Očekivani broj	246.0	158.0	404.0
		% unutar Amlodipin	75.5%	24.5%	100.0%
	2.00	Broj	5	0	5
		Očekivani broj	3.0	2.0	5.0
		% unutar Amlodipin	100.0%	.0%	100.0%
3.00	Broj	0	1	1	
	Očekivani broj	.6	.4	1.0	
	% unutar Amlodipin	.0%	100.0%	100.0%	
Total	Broj	3021	1940	4961	
	Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0	
	% unutar Amlodipin	60.9%	39.1%	100.0%	

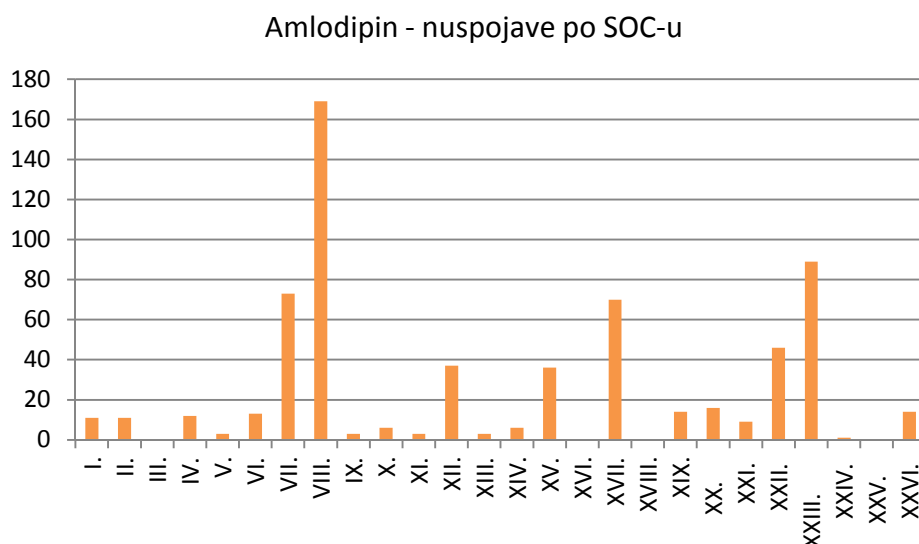
**Chi-kvadrat test**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	44.291 <sup>a</sup>	3	0.0001
Likelihood Ratio	48.742	3	0.0001
N of Valid Cases	4961		

*a. 4 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .39.*

Prijave nuspojava amlodipina se prvenstveno odnose na SOC VIII „Opći poremećaji i reakcije na mjestu primjene“ što je posebno izraženo za ovaj lijek u odnosu na prijave iz cjelokupne baze. Slijedi ga SOC „Poremećaji kože i potkožnog tkiva“. Radi se prvenstveno o prijavama perifernih edema, crvenila, nategnute kože isl. koji se ne klasificiraju kao ozbiljne nuspojave, ali koje pacijentima smanjuju kvalitetu života i u 90% slučajeva dovode do diskontinuacije terapije da bi se nuspojava povukla (Vidi i sliku 25).

**Slika 25.**



#### 5.1.4.3. STATINI (ATORVASTATIN, SIMVASTATIN)

U grupi statina koji su supstrati transportera Pgp-a, a nisu supstrati CYP2C9 su atorvastatin i simvastatin. U analizi ozbiljnosti prijavljenih nuspojava vidi se da ova grupa lijekova supstrata Pgp-a u smislu ozbiljnosti prijavljenih nuspojava je u korelaciji s ukupnom bazom i nisu ozbiljne u većem broju nego što je to za očekivati u odnosu na prijave svih drugih lijekova (40% svih prijava).

**Tablica 32.****STATINI PGP \* Ozbiljnost Crosstabulation**

			Ozbiljnost		UKUPNO
			NE	DA	
STATINI PGP	.00	Broj	2786	1822	4608
		Očekivani broj	2806.0	1802.0	4608.0
		% unutar STATINI PGP	60.5%	39.5%	100.0%
	1.00	Broj	230	114	344
		Očekivani broj	209.5	134.5	344.0
		% unutar STATINI PGP	66.9%	33.1%	100.0%
	2.00	Broj	4	4	8
		Očekivani broj	4.9	3.1	8.0
		% unutar STATINI PGP	50.0%	50.0%	100.0%
3.00	Broj	1	0	1	
	Očekivani broj	.6	.4	1.0	
	% unutar STATINI PGP	100.0%	.0%	100.0%	
Total	Broj	3021	1940	4961	
	Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0	
	% unutar STATINI PGP	60.9%	39.1%	100.0%	

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	6.548 <sup>a</sup>	3	0.088
Likelihood Ratio	6.998	3	0.072
N of Valid Cases	4961		

*a. 4 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .39.*

#### 5.1.4.4. ANTIEPILEPTICI (KARMBAMAZEPIN, LAMOTRIGIN)

U grupi antiepileptika koji su supstrati transportera Pgp-a se nalaze lijekovi karbamazepin i lamotrigin. U analizi ozbiljnosti prijavljenih nuspojava vidi se da ova grupa lijekova supstrata Pgp-a u smislu ozbiljnosti prijavljenih nuspojava je u korelaciji s prijavama u ukupnoj bazi i nisu ozbiljne u većem broju nego što je to za očekivati u odnosu na prijave svih drugih lijekova (40% svih prijava).

**Tablica 33.**

**ANTIPILEPTICI PGP \* Ozbiljnost Crosstabulation**

			Ozbiljnost		Total
			no	yes	
ANTIPILEPTICI PGP .00	Broj	2920	1862	4782	
	Očekivani broj	2912.0	1870.0	4782.0	
	% ukupno ANTIPILEPTICI PGP	61.1%	38.9%	100.0%	
1.00	Broj	91	68	159	
	Očekivani broj	96.8	62.2	159.0	
	% ukupno ANTIPILEPTICI PGP	57.2%	42.8%	100.0%	
2.00	Broj	10	7	17	
	Očekivani broj	10.4	6.6	17.0	
	% ukupno ANTIPILEPTICI PGP	58.8%	41.2%	100.0%	
3.00	Broj	0	2	2	
	Očekivani broj	1.2	.8	2.0	
	% ukupno ANTIPILEPTICI PGP	.0%	100.0%	100.0%	
4.00	Broj	0	1	1	
	Očekivani broj	.6	.4	1.0	
	% ukupno ANTIPILEPTICI PGP	.0%	100.0%	100.0%	
Total	Broj	3021	1940	4961	
	Očekivani broj	3021.0	1940.0	4961.0	
	% ukupno ANTIPILEPTICI PGP	60.9%	39.1%	100.0%	

**Chi-kvadrat test**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5.654 <sup>a</sup>	4	0.227
Likelihood Ratio	6.607	4	0.158
N of Valid Cases	4961		

*a. 4 cells (40.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .39.*

## 5.2. Rezultati farmakogenetičkih analiza

### Sudionici

U istraživanju je sudjelovalo 319 sudionika, pri čemu ih je 131/319 (41,1%) bilo muškog spola. Farmakogenetička analiza je provedena za 158 ispitanika s nuspojavama, 91 žena (dob 54,48 +/- 11,73 godina) i 67 muškaraca (dob 52,13 +/- 9,16 godina) i 155 ispitanika bez nuspojava 89 žena (dob 55,23 +/- 10,16 godina) i 66 muškarca (dob 53,11 +/- 8,12 godina).

**Tablica 34.** Skupine lijekova za koje su rađene farmakogenomske analize

	n (%)
fluvastatin	96 (30,2)
antiepileptici	75 (23,6)
varfarin	74 (23,3)
nesteroidni antireumatici	72 (22,6)
ostali lijekovi	9 (2,8)

### 5.2.1. Utjecaj polimorfizama CYP2C9 na razvoj nuspojava lijekova supstrata

**Tablica 35.** Učestalost nuspojava s obzirom na alele i genotipove CYP2C9

	n(%)	nuspojave	kontrole	P	učinak	OR	95% CI
<b>Genotip</b>							
*1/*1		48 (31,2)	122 (75,3)	<0,001	0,44	0,15	(0,09-0,24)
*1/*2		49 (31,8)	26 (16,0)	0,001	0,19	2,44	(1,42-4,19)
*1/*3		39 (25,3)	10 (6,2)	<0,001	0,26	5,16	(2,47-10,76)
*2/*2		7 (4,5)	3 (1,9)	0,209		2,52	(0,64-9,94)
*2/*3		9 (5,8)	1 (0,6)	0,009	0,15	9,99	(1,25-79,84)
*3/*3		2 (1,3)	0 (0,0)				
ukupno		154 (100,0)	162 (100,0)				
<b>Alel</b>							
*1		184 (59,7)	280 (86,4)	<0,001	0,30	0,23	(0,16-0,35)
*2		72 (23,4)	33 (10,2)	<0,001	0,18	2,69	(1,72-4,20)
*3		52 (16,9)	11 (3,4)	<0,001	0,23	5,78	(2,95-11,31)
ukupno		308 (100,0)	324 (100,0)				
<b>Genotip</b>							
wt/wt		48 (31,2)	122 (75,3)	<0,001	0,44	0,15	(0,09-0,24)
wt/mt		88 (57,1)	36 (22,2)	<0,001	0,36	4,67	(2,86-7,61)
mt/mt		18 (11,7)	4 (2,5)	0,001	0,18	5,23	(1,73-15,82)
ukupno		154 (100,0)	162 (100,0)				
<b>Alel</b>							
wt		184 (59,7)	280 (86,4)				
mt		124 (40,3)	44 (13,6)	<0,001	0,30	4,29	(2,90-6,43)
ukupno		308 (100,0)	324 (100,0)				

KRATICE: P = Fisherov egzaktni test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha); učinak = standardizirana mjera veličine učinka dana za statistički značajne rezultate;  $\phi$  koeficijent asocijacije; OR = omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojava za dani genotip/alel sa svim ostalima kao referentnom grupom; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda ; wt=wild type (\*1), mut= mutirani aleli (\*2,\*3)

Učestalost genotipa *CYP2C9\*1/\*1* bila je statistički značajno niža u skupini bolesnika koji su imali nuspojave, u odnosu na one bez nuspojava (Fisherov egzaktni  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,44$ ). Ovaj genotip bio je prisutan kod 48/154 (31,2%) bolesnika s nuspojavama u odnosu na 122/162 (75,3%) onih bez nuspojava. Učestalost *CYP2C9\*1/\*2* bila je statistički značajno viša u skupini bolesnika s nuspojavama u odnosu na one bez nuspojava (Fisherov egzaktni  $p = 0,001$ ;  $\phi = 0,19$ ), kao i učestalost *CYP2C9\*1/\*3* (Fisherov egzaktni  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,26$ ). Genotip *CYP2C9\*1/\*2* bio je prisutan kod 49/154 (31,8%) bolesnika s nuspojavama u odnosu na 26/162 (16,0%) onih u kontrolnoj skupini, dok je *CYP2C9\*1/\*3* bio prisutan kod 39/154 (25,3%) pacijenata s nuspojavama u odnosu na 10/162 (6,2%) pacijenata kontrolne skupine. Učestalost *CYP2C9\*2/\*3* također je bila statistički značajno viša u skupini pacijenata s nuspojavama u odnosu na kontrolnu skupinu (Fisherov egzaktni  $p = 0,009$ ;  $\phi = 0,15$ ). Ovaj genotip bio je prisutan kod 9/154 (5,8%) pacijenata s nuspojavama u odnosu na 1/162 (0,6%) onih u kontrolnoj skupini. Na razini alela, prevalencija *CYP2C9\*1* bila je statistički značajno niža u skupini pacijenata koji su imali nuspojave u odnosu na kontrolnu skupinu (Fisherov egzaktni  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,30$ ). U skupini pacijenata s nuspojavama, prevalencija ovih alela bila je 184/308 (59,7%) u odnosu na 280/324 (86,4%) u kontrolnoj skupini. Kod pacijenata s nuspojavama utvrđena je statistički značajno viša prevalencija *CYP2C9\*2* (Fisherov egzaktni  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,18$ ) te *CYP2C9\*3* alela (Fisherov egzaktni  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,23$ ) nego kod onih bez nuspojava. Prevalencija *CYP2C9\*2* alela u skupini pacijenata s nuspojavama iznosila je 72/308 (23,4%) u odnosu na 33/324 (10,2%) u kontrolnoj skupini, a prevalencija alela *CYP2C9\*3* u skupini pacijenata s nuspojavama iznosila je 52/308 (16,9%), dok je u kontrolnoj skupini iznosila 11/324 (3,4%).

### 5.2.2. Utjecaj polimorfizama *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T* na razvoj nuspojava lijekova supstrata

**Tablica 16.**

Učestalost nuspojava s obzirom na alele i genotipove *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T*

	n(%)	nuspojave	kontrole	P	učinak	OR	95% CI
<b>Genotip G2677T/A</b>							
GG		47 (30,7)	40 (24,5)	0,257		1,36	(0,83-2,24)
GT		62 (40,5)	87 (53,4)	<b>0,024</b>	0,13	0,60	(0,38-0,93)
TT		43 (28,1)	36 (22,1)	0,243		1,38	(0,83-2,30)
TA		1 (0,7)	0 (0,0)	-			
ukupno		153 (100,0)	163 (100,0)				
Alel							
T		149 (48,9)	159 (48,8)				
G		156 (51,1)	167 (51,2)	>0,999		1,0	(0,73-1,36)
ukupno		305 (100,0)	326 (100,0)				
<b>Genotip C3435T</b>							
TT		50 (32,7)	46 (28,2)	0,395		1,24	(0,76-2,0)
CC		32 (20,9)	35 (21,5)	>0,999		0,97	(0,56-1,66)
CT		71 (46,4)	82 (50,3)	0,501		0,86	(0,55-1,33)
ukupno		153 (100,0)	163 (100,0)				
Alel							
C		135 (44,1)	152 (46,6)				
T		171 (55,9)	174 (53,4)	0,576		1,11	(0,81-1,51)
ukupno		306 (100,0)	326 (100,0)				

KRATICE: P = Fisherov egzaktni test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha); učinak = standardizirana mjera veličine učinka dana za statistički značajne rezultate;  $\phi$  koeficijent asocijacije; OR = omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojava sa svim ostalim genotipovima kao referentnom grupom u slučaju genotipova te s T alelom u slučaju alela; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda



Učestalost genotipa *ABCBI 2677GT* bila je statistički značajno niža u skupini bolesnika s nuspojavama u odnosu na one bez nuspojava (Fisherov egzaktni  $p=0,024$ ;  $\phi=0,13$ ). Ovaj genotip bio je prisutan kod 62/153 (40,5%) bolesnika s nuspojavama u odnosu na 87/163 (53,4%) onih u kontrolnoj skupini. Na razini alela nije utvrđena statistički značajna povezanost njihove prevalencije i razvoja nuspojava.

Između pacijenata s nuspojavama i onih bez nuspojava nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti niti jednog od genotipova *ABCBI C3435T*, kao ni razlika s obzirom na prevalenciju alela.

**Tablica 37.**

Učestalost nuspojava s obzirom na haplotipove *ABCBI G2677T/A* i *C3445T*

	G2677T/A	C3435T	nuspojave	kontrole	P
H1	T	T	142,0 (46,4)	143,9 (44,1)	0,569
H2	G	C	128,1 (41,9)	136,9 (42,0)	0,972
H3	G	T	29,0 (9,5)	30,1 (9,2)	0,914
H4	T	C	6,9 (2,3)	15,1 (4,6)	0,105
ukupno			306 (100,0)	326 (100,0)	

KRATICE: P = hi-kvadrat test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha)

Između pacijenata s nuspojavama i onih bez nuspojava nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti niti jednog haplotipa.

**Tablica 38.**Predikcija nuspojave na temelju *CYP2C9*, *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T*

	n(%)	nuspojave	kontrole	OR <sub>uv</sub>	95% CI	OR <sub>mv</sub>	95% CI
<i>CYP2C9</i>							
*1/*1		48 (31,2)	122 (75,3)				
*1/*2		49 (31,8)	26 (16,0)	4,79	(2,68-8,57)	4,88	(2,69-8,80)
*1/*3		39 (25,3)	10 (6,2)	9,91	(4,59-21,43)	10,97	(4,97-24,24)
*2/*2		7 (4,5)	3 (1,9)	5,93	(1,47-23,89)	5,13	(1,23-21,39)
*2/*3		9 (5,8)	1 (,6)	22,88	(2,82-185,46)	23,70	(2,83-198,48)
*3/*3		2 (1,3)		-		-	
ukupno		154 (100,0)	162 (100,0)				
<i>ABCB1 G2677T</i>							
GT		62 (40,5)	87 (53,4)				
TT		43 (28,1)	36 (22,1)	1,68	(0,97-2,90)	1,91	(0,85-4,31)
GG		47 (30,7)	40 (24,5)	1,65	(0,97-2,81)	2,18	(0,96-4,97)
TA		1 (0,7)	0 (0,0)				
ukupno		153 (100,0)	163 (100,0)				
<i>ABCB1 C3435T</i>							
CT		71 (46,4)	82 (50,3)				
CC		32 (20,9)	35 (21,5)	1,06	(0,59-1,88)	0,84	(0,35-2,01)
TT		50 (32,7)	46 (28,2)	1,26	(0,75-2,09)	1,23	(0,56-2,69)
ukupno		153 (100,0)	163 (100,0)				

KRATICE: OR<sub>uv</sub> = univarijatan omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojave; OR<sub>mv</sub> = multivarijatan omjer izgleda; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

Univarijatnom logističkom regresijom (samo na razini CYP2C9) utvrđeno je da pacijenti s genotipom *CYP2C9\*1/\*2* imaju gotovo 5 puta veće izgleda za razvoj nuspojava u odnosu na pacijente s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* (OR=4,79; 95% CI: 2,68-8,57). Pacijenti s *CYP2C9\*1/\*3* imali su gotovo 10 puta veće izgleda za razvoj nuspojava u odnosu na one s *CYP2C9\*1/\*1* (OR=9,91; 95% CI=4,59-21,43), dok su oni s genotipom *CYP2C9\*2/\*2* imali gotov 6 puta veće izgleda za razvoj nuspojava u odnosu na one s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* (OR=5,93; 95% CI=1,47-23,89). Također, pacijenti s genotipom *CYP2C9\*2/\*3* imali su 22,88 puta veće izgleda za razvoj nuspojava u odnosu na one s *CYP2C9\*1/\*1* (OR=22,88; 95% CI=2,82-185,46). Kad su *CYP2C9*, *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T* korišteni simultano za predikciju razvoja nuspojava u multivarijatnoj logističkoj regresiji, utvrđeni su gotovo 5 puta veći izgledi za razvoj nuspojava kod pacijenata s genotipom *CYP2C9\*1/\*2* u odnosu na pacijente s *CYP2C9\*1/\*1* (OR=4,88; 95% CI: 2,69-8,80) te preko 10 puta veći kod pacijenata s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* u odnosu na pacijente s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* (OR=10,97; 95% CI: 4,97-24,24). Multivarijatnom analizom također je utvrđeno da pacijenti s genotipom *CYP2C9\*2/\*2* imaju oko 5 puta veće izgleda za razvoj nuspojava u odnosu na one s *CYP2C9\*1/\*1* genotipom (OR=5,13; 95% CI=1,23-21,39) te da oni s genotipom *CYP2C9\*2/\*3* imaju gotovo 24 puta veće izgleda za razvoj nuspojava u odnosu na one s *CYP2C9\*1/\*1* genotipom (OR=2,83-198,48). *ABCB1 G2677T/A* i *MDR1 C3435T* nisu bili statistički značajno povezani s nuspojavama niti u univarijatnoj, niti u multivarijatnoj analizi.

### 5.2.3. Utjecaj polimorfizama CYP2C9 na razvoj nuspojava na terapiju varfarinom

**Tablica 39.** Učestalost nuspojava s obzirom na alele i genotipove CYP2C9

	n(%)	nuspojave	kontrole	P	učinak	OR	95% CI
<b>Genotip</b>							
*1/*1		4 (13,3)	34 (79,1)	<0,001	0,65	0,04	(0,01-0,15)
*1/*2		4 (13,3)	8 (18,6)	0,750		0,67	(0,18-2,48)
*1/*3		11 (36,7)	1 (2,3)	<0,001	0,46	24,32	(2,93-202,10)
*2/*2		4 (13,3)	0 (0,0)	0,025	0,29	-	
*2/*3		6 (20,0)	0 (0,0)	0,003	0,36	-	
*3/*3		1 (3,3)	0 (0,0)	-			
ukupno		30 (100,0)	43 (100,0)				
<b>Alel</b>							
*1		23 (38,3)	77 (89,5)	<0,001	0,54	0,07	(0,03-0,17)
*2		18 (30,0)	8 (9,3)	0,002	0,27	4,18	(1,68-10,42)
*3		19 (31,7)	1 (1,2)	<0,001	0,44	39,39	(5,10-304,49)
ukupno		60 (100,0)	86 (100,0)				
	n(%)	nuspojave	kontrole	P	učinak	OR	95% CI
<b>Genotip</b>							
wt/wt		4 (13,3)	34 (79,1)	<0,001	0,65	0,04	(0,01-0,15)
wt/mt		15 (50,0)	9 (20,9)	0,012	0,30	3,78	(1,36-10,54)
mt/mt		11 (36,7)	0 (0,0)	<0,001	0,50	-	
ukupno		30 (100,0)	43 (100,0)				
<b>Alel</b>							
wt		23 (38,3)	77 (89,5)				
mt		37 (61,7)	9 (10,5)	<0,001	0,54	13,76	(5,80-32,68)
ukupno		60 (100,0)	86 (100,0)				

KRATICE: P = Fisherov egzaktni test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha); učinak = standardizirana mjera veličine učinka dana za statistički značajne rezultate;  $\phi$  koeficijent asocijacije; OR = omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojava za dani genotip/alel sa svim ostalima kao referentnom grupom; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

Učestalost genotipa *CYP2C9\*1/\*1* bila je statistički značajno niža u skupini bolesnika koji su imali nuspojave na terapiju varfarinom, u odnosu na one bez nuspojava (Fisherov egzakti  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,65$ ). Ovaj genotip bio je prisutan kod 4/30 (13,3%) bolesnika s nuspojavama u odnosu na 34/43 (79,1%) onih bez nuspojava. Učestalost *CYP2C9\*1/\*3* bila je statistički značajno viša u skupini bolesnika s nuspojavama u odnosu na one bez nuspojava (Fisherov egzakti  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,46$ ). U skupini bolesnika s nuspojavama ovaj genotip bio je prisutan kod 11/30 (36,7%) njih, u odnosu na 1/43 (2,3%) u skupini onih bez nuspojava. U skupini bolesnika s nuspojavama također je utvrđena statistički značajno viša učestalost genotipova *CYP2C9\*2/\*2* (Fisherov egzakti  $p = 0,025$ ;  $\phi = 0,29$ ) i *CYP2C9\*2/\*3* (Fisherov egzakti  $p = 0,003$ ;  $\phi = 0,36$ ).

Na razini alela, prevalencija *CYP2C9\*1* bila je statistički značajno niža u skupini pacijenata koji su imali nuspojave na varfarin u odnosu na kontrolnu skupinu (Fisherov egzakti  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,54$ ). U skupini pacijenata s nuspojavama, prevalencija ovih alela bila je 28/60 (38,3%) u odnosu na 77/86 (89,5%) u kontrolnoj skupini. Kod pacijenata s nuspojavama utvrđena je statistički značajno viša prevalencija alela *CYP2C9\*2* (Fisherov egzakti  $p = 0,002$ ;  $\phi = 0,27$ ) te *CYP2C9\*3* (Fisherov egzakti  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,44$ ) nego kod onih bez nuspojava. Prevalencija *CYP2C9\*2* u skupini pacijenata s nuspojavama iznosila je 18/60 (30,0%) u odnosu na 8/86 (9,3%) u kontrolnoj skupini, a prevalencija alela *CYP2C9\*3* u skupini pacijenata s nuspojavama iznosila je 19/60 (31,7%), dok je u kontrolnoj skupini iznosila 1/86 (1,2%).

#### 5.2.4. Utjecaj polimorfizama *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T* na razvoj nuspojava na terapiju varfarinom

**Tablica 40.** Učestalost nuspojava s obzirom na alele i genotipove *ABCB1 G2677T/A* i *ABCB1 C3435T*

	n(%)	nuspojave	kontrole	P	učinak	OR	95% CI
<b>Genotip G2677T/A</b>							
GG		13 (43,3)	8 (18,2)	<b>0,034</b>	0,27	3,44	(1,20-9,86)
GT		11 (36,7)	24 (54,5)	0,159		0,48	(0,19-1,25)
TT		5 (16,7)	12 (27,3)	0,401		0,53	(0,17-1,71)
TA		1 (3,3)	0 (0,0)	-			
ukupno		30 (100,0)	44 (100,0)				
<b>Alel</b>							
T		22 (37,3)	48 (54,5)				
G		37 (62,7)	40 (45,5)	<b>0,045</b>	0,17	2,02	(1,03-3,96)
ukupno		59 (100,0)	88 (100,0)				
<b>Genotip C3435T</b>							
TT		7 (23,3)	17 (38,6)	0,210		0,48	(0,17-1,37)
CC		7 (23,3)	8 (18,2)	0,769		1,37	(0,44-4,29)
CT		16 (53,3)	19 (43,2)	0,479		1,50	(0,59-3,82)
ukupno		30 (100,0)	44 (100,0)				
<b>Alel</b>							
T		30 (50,0)	53 (60,2)				
C		30 (50,0)	35 (39,8)	0,241		1,51	(0,78-2,94)

KRATICE: P = Fisherov egzaktni test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha); učinak = standardizirana mjera veličine učinka dana za statistički značajne rezultate;  $\phi$  koeficijent asocijacije; OR = omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojava sa svim ostalim genotipovima kao referentnom grupom u slučaju genotipova te s T alelom u slučaju alela; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

Učestalost genotipa *ABCB1 2677GG* bila je statistički značajno viša u skupini bolesnika koji su imali nuspojave na terapiju varfarinom (Fisherov egzaktni  $p=0,034$ ;  $\phi=0,27$ ). Ovaj genotip bio je prisutan kod 13/30 (43,3%) bolesnika s nuspojavama u odnosu na 8/44 (18,2%) onih u kontrolnoj skupini. Prevalencija alela bila je statistički značajno povezana s razvojem nuspojave (Fisherov egzaktni  $p=0,045$ ;  $\phi=0,17$ ). Prevalencija 2677G alela iznosila je 37/50 (62,7%) u skupini pacijenata s nuspojavama u odnosu na 40/88 (54,5%) u kontrolnoj skupini. Između pacijenata s nuspojavama i onih bez nuspojave nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti niti jednog od genotipova *ABCB1 C3435T*, kao ni razlika s obzirom na prevalenciju alela.

**Tablica 41.**

Učestalost nuspojave s obzirom na haplotipove *ABCB1 G2677T/A* i *C3445T*

	G2677T/A	C3435T	nuspojave	kontrole	P
H1	T	T	21,7 (36,2)	45,9 (52,1)	0,057
H2	G	C	29,9 (49,8)	32,9 (37,3)	0,132
H3	G	T	8,3 (13,8)	7,1 (8,1)	0,268
H4	T	C	0,1 (0,2)	2,1 (2,4)	0,275
ukupno			60 (100,0)	88 (100,0)	

KRATICE: P = hi-kvadrat test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha)

Između pacijenata s nuspojavama i onih bez nuspojave nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti niti jednog haplotipa.

**Tablica 42.** Predikcija nuspojave na temelju *CYP2C9*, *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T*

	n(%)	nuspojave	kontrole	OR <sub>uv</sub>	95% CI	OR <sub>mv</sub>	95% CI
<i>CYP2C9</i>							
*1/*1		4 (13,3)	34 (79,1)				
*1/*2		4 (13,3)	8 (18,6)	4,25	(0,87-20,75)	6,58	(1,08-39,88)
*1/*3		11 (36,7)	1 (2,3)	93,5	(9,43-927,3)	106,52	(8,74-1298,79)
*2/*2		4 (13,3)	0 (0,0)	-		-	
*2/*3		6 (20,0)	0 (0,0)	-		-	
*3/*3		1 (3,3)	0 (0,0)				
ukupno		30 (100,0)	43 (100,0)				
<i>ABCB1 G2677T</i>							
TT		5 (16,7)	12 (27,3)				
GT		11 (36,7)	24 (54,5)	1,10	(0,31-3,89)	0,31	(0,02-4,65)
GG		13 (43,3)	8 (18,2)	3,90	(1,0-15,28)	3,88	(0,09-174,27)
TA		1 (3,3)	0 (0,0)				
ukupno		30 (100,0)	44 (100,0)				
<i>ABCB1 C3435T</i>							
TT		7 (23,3)	17 (38,6)				
CT		16 (53,3)	19 (43,2)	2,05	(0,68-6,16)	3,44	(0,27-43,23)
CC		7 (23,3)	8 (18,2)	2,13	(0,56-8,14)	0,45	(0,01-23,60)
ukupno		30 (100,0)	44 (100,0)				

KRATICE: OR<sub>uv</sub> = univarijatan omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojave; OR<sub>mv</sub> = multivarijatan omjer izgleda; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda



Univarijatnom logističkom regresijom (samo na razini CYP2C9) utvrđeno je da pacijenti s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* imaju statistički značajno veće izgleda (preko 90 puta) za razvoj nuspojava u odnosu na pacijente s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* (OR=93,5; 95% CI: 9,43-927,3). Kad su *CYP2C9*, *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T* korišteni simultano za predikciju razvoja nuspojava u multivarijatnoj logističkoj regresiji, utvrđeni su preko 6 puta veći izgledi za razvoj nuspojava kod pacijenata s *CYP2C9\*1/\*2* u odnosu na pacijente s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* (OR=6,58; 95% CI: 1,08-39,88) te preko 100 puta veći kod pacijenata s *CYP2C9\*1/\*3* genotipom u odnosu na pacijente s *CYP2C9\*1/\*1* genotipom (OR=106,52; 95% CI: 8,74-1298,79).

*ABCB1 G2677T/A* i *C3435T* nisu bili statistički značajno povezani s nuspojavama niti u univarijatnoj, niti u multivarijatnoj analizi.

### 5.2.5. Utjecaj polimorfizama CYP2C9 na razvoj nuspojave na terapiju nesteroidnim protuupalnim lijekovima

**Tablica 2.** Učestalost nuspojave s obzirom na genotipove i alele CYP2C9

	n(%)	nuspojave	kontrole	P	učinak	OR	95% CI
<b>Genotip</b>							
*1/*1		5 (15,6)	29 (72,5)	<0,001	0,57	0,07	(0,02-0,23)
*1/*2		16 (50,0)	7 (17,5)	0,005	0,35	4,71	(1,62-13,75)
*1/*3		9 (28,1)	2 (5,0)	0,009	0,32	7,44	(1,48-37,47)
*2/*2		2 (6,3)	1 (2,5)	0,581		2,60	(0,23-30,05)
*2/*3		0 (0,0)	1 (2,5)	-			
ukupno		32 (100,0)	40 (100,0)				
<b>Alel</b>							
*1		35 (54,7)	67 (83,8)	<0,001	0,32	0,23	(0,11-0,51)
*2		20 (31,3)	10 (12,5)	0,007	0,23	3,18	(1,36-7,43)
*3		9 (14,1)	3 (3,8)	0,034	0,19	4,20	(1,09-16,23)
ukupno		64 (100,0)	80 (100,0)				
<b>Genotip</b>							
wt/wt		5 (15,6)	29 (72,5)	<0,001	0,57	0,07	(0,02-0,23)
wt/mt		25 (78,1)	9 (22,5)	<0,001	0,55	12,30	(4,02-37,68)
mt/mt		2 (6,3)	2 (5,0)	>0,999		1,27	(0,17-9,53)
ukupno		32 (100,0)	40 (100,0)				
<b>Alel</b>							
wt		35 (54,7)	67 (83,8)				
mt		29 (45,3)	13 (16,3)	<0,001	0,32	4,27	(1,97-9,24)
ukupno		64 (100,0)	80 (100,0)				

KRATICE: P = Fisherov egzaktni test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha); učinak = standardizirana mjera veličine učinka dana za statistički značajne rezultate;  $\phi$  koeficijent asocijacije; OR = omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojave za dani genotip/alel sa svim ostalima kao referentnom grupom; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

Učestalost genotipa *CYP2C9\*1/\*1* bila je statistički značajno niža u skupini bolesnika koji su razvili nuspojave u odnosu na kontrolnu skupinu (Fisherov egzakti  $p < 0,001$ ,  $\phi = 0,57$ ). Ovaj genotip bio je prisutan kod 5/32 (15,6%) bolesnika s nuspojavama u odnosu na 29/40 (72,5%) onih bez nuspojava. Genotip *CYP2C9\*1/\*2* bio je statistički značajno učestaliji kod bolesnika s nuspojavama u odnosu na one bez njih (Fisherov egzakti  $p = 0,005$ ;  $\phi = 0,35$ ), pri čemu je utvrđen kod 16/32 (50,0%) bolesnika s nuspojavama u odnosu na 7/40 (17,5%) onih iz kontrolne skupine. Kod bolesnika s nuspojavama također je utvrđena statistički značajno veća učestalost genotipa *CYP2C9\*1/\*3* (Fisherov egzakti  $p = 0,009$ ;  $\phi = 0,32$ ), koji je u toj skupini bolesnika bio prisutan kod njih 9/32 (28,1%) u odnosu na 2/40 (5,0%) onih u kontrolnoj skupini.

Na razini alela, prevalencija *CYP2C9\*1* bila je statistički značajno viša u skupini pacijenata koji su imali nuspojave na nesteroidne antireumatike u odnosu na kontrolnu skupinu (Fisherov egzakti  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,32$ ). U skupini pacijenata s nuspojavama, prevalencija ovih alela bila je 35/64 (54,7%) u odnosu na 67/80 (83,8%) u kontrolnoj skupini. Kod pacijenata s nuspojavama utvrđena je statistički značajno viša prevalencija *CYP2C9\*2* (Fisherov egzakti  $p = 0,007$ ;  $\phi = 0,23$ ) te *CYP2C9\*3* (Fisherov egzakti  $p = 0,034$ ;  $\phi = 0,19$ ) nego kod onih bez nuspojava. Prevalencija *CYP2C9\*2* u skupini pacijenata s nuspojavama iznosila je 20/64 (31,3%) u odnosu na 10/80 (12,5%) u kontrolnoj skupini, a prevalencija *CYP2C9\*3* u skupini pacijenata s nuspojavama iznosila je 9/64 (14,1%), dok je u kontrolnoj skupini iznosila 3/80 (3,8%).

**5.2.6. Utjecaj polimorfizama ABCB1 G2677T/A i C3435T na razvoj nuspojava na terapiju nesteroidnim protuupalnim lijekovima**

**Tablica 44.** Učestalost nuspojava s obzirom na alele i genotipove ABCB1 G2677T/A i C3435T

	n(%)	nuspojave	kontrola	P	učinak	OR	95% CI
<b>Genotip G2677T/A</b>							
GG		8 (25,0)	12 (30,0)	0,792		0,78	(0,27-2,22)
GT		15 (46,9)	21 (52,5)	0,813		0,80	(0,32-2,03)
TT		9 (28,1)	7 (17,5)	0,393		1,85	(0,60-5,67)
ukupno		32 (100,0)	40 (100,0)				
<b>Alel</b>							
G		31 (48,4)	45 (56,3)				
T		33 (51,6)	35 (43,8)	0,402		1,37	(0,71-2,65)
ukupno		64 (100,0)	80 (100,0)				
<b>Genotip C3435T</b>							
TT		11 (34,4)	8 (20,0)	0,189		2,10	(0,72-6,07)
CC		5 (15,6)	12 (30,0)	0,175		0,43	(0,13-1,39)
CT		16 (50,0)	20 (50,0)	>0,999		1,0	(0,40-2,53)
ukupno		32 (100,0)	40 (100,0)				
<b>Alel</b>							
C		26 (40,6)	44 (55,0)				
T		38 (59,4)	36 (45,0)	0,096		1,79	(0,92-3,48)
ukupno		64 (100,0)	80 (100,0)				

KRATICE: P = Fisherov egzaktni test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha); učinak = standardizirana mjera veličine učinka dana za statistički značajne rezultate:  $\phi$  koeficijent asocijacije; OR = omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojava sa svim ostalim genotipovima kao referentnom grupom u slučaju genotipova te s G alelom u slučaju alela; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

Između pacijenata s nuspojavama i onih bez nuspojava nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti niti jednog od alela i genotipova *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T*.

**Tablica 45.**

Učestalost nuspojava s obzirom na haplotipove *ABCB1 G2677T/A* i *C3445T*

	G2677T/A	C3435T	nuspojave	kontrole	P
H1	G	C	24,8 (38,7)	38,7 (48,3)	0,246
H2	T	T	31,8 (49,6)	29,7 (37,1)	0,131
H3	G	T	6,2 (9,8)	6,3 (7,9)	0,696
H4	T	C	1,2 (2,0)	5,3 (6,7)	0,178
ukupno			64 (100,0)	80 (100,0)	

KRATICE: P = hi-kvadrat test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha)

Između pacijenata s nuspojavama i onih bez nuspojava nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti niti jednog haplotipa.

**Tablica 3.** Predikcija nuspojave na temelju *CYP2C9*, *ABCB1 G2677T* i *C3435T*

n(%)	nuspojave	kontrole	OR <sub>uv</sub>	95% CI	OR <sub>mv</sub>	95% CI
<i>CYP2C9</i>						
*1/*1	5 (15,6)	29 (72,5)				
*1/*2	16 (50,0)	7 (17,5)	13,26	(3,61-48,64)	14,33	(3,53-58,21)
*1/*3	9 (28,1)	2 (5,0)	26,10	(4,30-158,26)	31,93	(4,62-220,48)
*2/*2	2 (6,3)	1 (2,5)	11,60	(0,88-153,28)	20,24	(1,26-325,59)
*2/*3	0 (0,0)	1 (2,5)				
ukupno	32 (100,0)	40 (100,0)				
<i>ABCB1 G2677T</i>						
GG	8 (25,0)	12 (30,0)				
GT	15 (46,9)	21 (52,5)	1,07	(0,35-3,26)	0,21	(0,02-1,77)
TT	9 (28,1)	7 (17,5)	1,93	(0,51-7,31)	0,27	(0,02-4,76)
ukupno	32 (100,0)	40 (100,0)				
<i>ABCB1 C3435T</i>						
CC	5 (15,6)	12 (30,0)				
CT	16 (50,0)	20 (50,0)	1,92	(0,56-6,59)	2,95	(0,32-27,08)
TT	11 (34,4)	8 (20,0)	3,30	(0,83-13,18)	5,92	(0,32-110,92)
ukupno	32 (100,0)	40 (100,0)				

KRATICE: OR<sub>uv</sub> = univarijatni omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojave; OR<sub>mv</sub> = multivarijatni omjer izgleda; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

Univarijatom logističkom regresijom (samo na razini CYP2C9) utvrđeno je da pacijenti s genotipom *CYP2C9\*1/\*2* imaju statistički značajno, preko 13 puta veće izgleda za razvoj nuspojava u odnosu na pacijente s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* (OR=13,26; 95% CI: 3,61-48,63). Također je utvrđeno da pacijenti s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* imaju 26,10 puta veće izgleda za razvoj nuspojava u odnosu na one s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* (OR=26,10; 95% CI: 4,30-158,26). Kad su *CYP2C9*, *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T* korišteni simultano za predikciju razvoja nuspojava u multivarijatom logističkoj regresiji, utvrđeni su gotovo 15 puta veći izgledi za razvoj nuspojava kod pacijenata s *CYP2C9\*1/\*2* u odnosu na pacijente s *CYP2C9\*1/\*1* genotipom (OR=14,33; 95% CI: 3,53-58,21) te preko 30 puta veći kod pacijenata s *CYP2C9\*1/\*3* genotipom u odnosu na pacijente s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* (OR=31,93; 95% CI: 4,62-220,48). Multivarijatom analizom također su utvrđeni oko 20 puta veći izgledi za razvoj nuspojava kod pacijenata s genotipom *CYP2C9\*2/\*2* u odnosu na one s *CYP2C9\*1/\*1* (OR=20,24; 95% CI=1,26-325,59).

*ABCB1 G2677T/A* i *C3435T* nisu bili statistički značajno povezani s nuspojavama niti u univarijatom, niti u multivarijatom analizi.

### 5.2.7. Utjecaj polimorfizama CYP2C9 na razvoj nuspojava na terapiju fluvastatinom

**Tablica 4.** Učestalost nuspojava s obzirom na alele i genotipove CYP2C9

	n(%)	nuspojave	kontrola	P	učinak	OR	95% CI
<b>Genotip</b>							
*1/*1		23 (51,1)	36 (70,6)	0,061		0,44	(0,19-1,01)
*1/*2		14 (31,1)	10 (19,6)	0,240		1,85	(0,73-4,72)
*1/*3		7 (15,6)	3 (5,9)	0,182		2,95	(0,71-12,17)
*2/*2		1 (2,2)	2 (3,9)	>0,999		0,56	(0,05-6,36)
ukupno		45 (100,0)	51 (100,0)				
<b>Alel</b>							
*1		67 (74,4)	85 (83,3)	0,155		0,58	(0,29-1,18)
*2		16 (17,8)	14 (13,7)	0,551		1,36	(0,62-2,97)
*3		7 (7,8)	3 (2,9)	0,194		2,78	(0,70-11,10)
ukupno		90 (100,0)	102 (100,0)				
<b>Genotip</b>							
wt/wt		23 (51,1)	36 (70,6)	0,061		0,44	(0,19-1,01)
wt/mt		21 (46,7)	13 (25,5)	<b>0,035</b>	0,22	2,56	(1,08-6,04)
mt/mt		1 (2,2)	2 (3,9)	>0,999		0,56	(0,05-6,36)
ukupno		45 (100,0)	51 (100,0)				
<b>Alel</b>							
wt		67 (74,4)	85 (83,3)				
mt		23 (25,6)	17 (16,7)	0,155		1,72	(0,85-3,47)
ukupno		90 (100,0)	102 (100,0)				

KRATICE: P = Fisherov egzaktni test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha); učinak = standardizirana mjera veličine učinka dana za statistički značajne rezultate:  $\phi$  koeficijent asocijacije; OR = omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojava za dani genotip/alel sa svim ostalima kao referentnom grupom; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda



Između pacijenata s nuspojavama i onih bez nuspojava nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti niti jednog od *CYP2C9* genotipova ili alela.

Genotipovi s jednim funkcionalnim i drugim mutiranim alelom bili su statistički značajno učestaliji u skupini bolesnika s nuspojavama u odnosu na one bez nuspojava (Fisherov egzaktni  $p=0,035$ ;  $\phi=0,22$ ). Ovi genotipovi bili su prisutni kod 21/45 (46,7%) bolesnika s nuspojavama, dok su kod onih bez nuspojava bili prisutni kod njih 13/51 (25,5%).

Na razini alela nije utvrđena statistički značajna povezanost tipa alela i razvoja nuspojava.

**5.2.8. Utjecaj polimorfizama ABCB1 G2677T/A i C3435T na razvoj nuspojave na terapiju fluvastatinom**

**Tablica 5.** Učestalost nuspojave s obzirom na alele i genotipove ABCB1 G2677T/A i C3435T.

	n(%)	nuspojave	kontrola	P	učinak	OR	95% CI
<b>Genotip G2677T/A</b>							
GG		13 (28,9)	13 (25,5)	0,819		1,19	(0,48-2,92)
GT		17 (37,8)	30 (58,8)	<b>0,044</b>	0,21	0,43	(0,19-0,97)
TT		15 (33,3)	8 (15,7)	0,056		2,69	(1,01-7,14)
ukupno		45 (100,0)	51 (100,0)				
<b>Alel</b>							
G		43 (47,8)	56 (54,9)				
T		47 (52,2)	46 (45,1)	0,386		1,33	(0,75-2,35)
ukupno		90 (100,0)	102 (100,0)				
<b>Genotip C3435T</b>							
TT		14 (31,1)	12 (23,5)	0,492		1,47	(0,59-3,62)
CC		8 (17,8)	6 (11,8)	0,564		1,62	(0,52-5,09)
CT		23 (51,1)	33 (64,7)	0,215		0,57	(0,25-1,29)
ukupno		45 (100,0)	51 (100,0)				
<b>Alel</b>							
C		39 (43,3)	45 (44,1)				
T		51 (56,7)	57 (55,9)	>0,999		1,03	(0,58-1,83)
ukupno		90 (100,0)	102 (100,0)				

KRATICE: P = Fisherov egzaktni test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha); učinak = standardizirana mjera veličine učinka dana za statistički značajne rezultate:  $\phi$  koeficijent asocijacije; OR = omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojave sa svim ostalim genotipovima kao referentnom grupom u slučaju genotipova te s G alelom u slučaju alela; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

Učestalost genotipa *ABCB1 2677GT* bila je statistički značajno manja u skupini ispitanika koji su imali nuspojave na fluvastatin u odnosu na one kod kojih nuspojave nisu bile prisutne (Fisherov egzaktni  $p=0,044$ ;  $\phi=0,21$ ). Ovaj genotip bio je prisutan kod 17/45 (37,8%) pacijenata s nuspojavama u odnosu na 30/51 (58,8%) onih u kontrolnoj skupini.

Na razini alela nije utvrđena statistički značajna povezanost između alela *ABCB1 G2677T/A* i razvoja nuspojava.

Između pacijenata s nuspojavama i onih bez nuspojava nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti niti jednog od *ABCB1 C3435T* genotipova, kao ni razlika s obzirom na prevalenciju alela.

**Tablica 6.**

Učestalost nuspojava s obzirom na haplotipove *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T*

	G2677T/A	C3435T	nuspojave	kontrole	P
H1	T	T	43,7 (48,6)	43,6 (42,7)	0,415
H2	G	C	35,7 (39,7)	42,6 (41,8)	0,774
H3	G	T	7,3 (8,1)	13,4 (13,1)	0,257
H4	T	C	3,3 (3,6)	2,4 (2,4)	0,607
ukupno			90 (100,0)	102 (100,0)	

KRATICE: P = hi-kvadrat test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha)

Između pacijenata s nuspojavama i onih bez nuspojava nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti niti jednog haplotipa.

**Tablica 50.** Predikcija nuspojave na temelju *CYP2C9*, *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T*

	n(%)	nuspojave	kontrole	OR <sub>uv</sub>	95% CI	OR <sub>mv</sub>	95% CI
<i>CYP2C9</i>							
*1/*1		23 (51,1)	36 (70,6)				
*1/*2		14 (31,1)	10 (19,6)	2,19	(0,83-5,76)	2,14	(0,77-5,99)
*1/*3		7 (15,6)	3 (5,9)	3,65	(0,86-15,57)	5,77	(1,22-27,26)
*2/*2		1 (2,2)	2 (3,9)	0,78	(0,07-9,13)	0,47	(0,03-6,45)
ukupno		45 (100,0)	51 (100,0)				
<i>ABCB1 G2677T</i>							
GT		17 (37,8)	30 (58,8)				
GG		13 (28,9)	13 (25,5)	1,77	(0,67-4,67)	1,24	(0,31-5,01)
TT		15 (33,3)	8 (15,7)	3,31	(1,17-9,40)	4,22	(1,03-17,12)
ukupno		45 (100,0)	51 (100,0)				
<i>ABCB1 C3435T</i>							
CT		23 (51,1)	33 (64,7)				
TT		14 (31,1)	12 (23,5)	1,67	(0,66-4,27)	1,08	(0,27-4,26)
CC		8 (17,8)	6 (11,8)	1,91	(0,59-6,26)	2,32	(0,46-11,62)
ukupno		45 (100,0)	51 (100,0)				

KRATICE: OR<sub>uv</sub> = univarijatni omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojave; OR<sub>mv</sub> = multivarijatni omjer izgleda; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

Univarijatnom logističkom regresijom, na razini *CYP2C9*, nije utvrđeni statistički značajna povezanost s razvojem nuspojave, dok je na razini *ABCB1 G2677T/A* utvrđeno da pacijenti s TT genotipom imaju preko 3 puta veće izgleda za razvoj nuspojave u odnosu na pacijente s GT genotipom (OR=3,31; 95% CI=1,17-9,40). Kad su *CYP2C9*, *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T* korišteni simultano za predikciju razvoja nuspojave u multivarijatnoj logističkoj regresiji, ovi izgledi povećali su se na 4,22 (OR=4,22; 95% CI= 1,03-17,12). Multivarijatnom analizom utvrđeni su gotovo 6 puta veći izgledi za razvoj nuspojave kod pacijenata s genotipom *CYP2C9\*1/\*3* u odnosu na one s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* (OR=5,77; 95% CI=1,22-27,26). *ABCB1 C3435T* nije bio statistički značajno povezan s nuspojavama niti u univarijatnoj, niti u multivarijatnoj analizi.

### 5.2.9. Utjecaj polimorfizama CYP2C9 na razvoj nuspojava na terapiju antiepilepticima

**Tablica 51.** Učestalost nuspojava s obzirom na alele i genotipove CYP2C9

	n(%)	nuspojave	kontrole	P	učinak	OR	95% CI
<b>Genotip</b>							
*1/*1		16 (36,4)	27 (87,1)	<0,001	0,51	0,09	(0,03-0,29)
*1/*2		13 (29,5)	1 (3,2)	0,005	0,33	12,58	(1,55-102,22)
*1/*3		11 (25,0)	2 (6,5)	0,061		4,83	(0,99-23,63)
*2/*2		1 (2,3)	1 (3,2)	>0,999		0,70	(0,04-11,60)
*2/*3		2 (4,5)	0 (0,0)	0,508		-	
*3/*3		1 (2,3)	0 (0,0)			-	
ukupno		44 (100,0)	31 (100,0)				
<b>Alel</b>							
*1		56 (63,6)	57 (91,9)	<0,001	0,32	0,15	(0,06-0,42)
*2		17 (19,3)	3 (4,8)	0,013	0,21	4,71	(1,32-16,85)
*3		15 (17,0)	2 (3,2)	0,009	0,22	6,16	(1,36-28,03)
ukupno		88 (100,0)	62 (100,0)				
<b>Genotip</b>							
wt/wt		16 (36,4)	27 (87,1)	<0,001	0,51	0,09	(0,03-0,29)
wt/mt		24 (54,5)	3 (9,7)	<0,001	0,46	11,20	(2,96-42,36)
mt/mt		4 (9,1)	1 (3,2)	0,397		3,0	(0,32-28,23)
ukupno		44 (100,0)	31 (100,0)				
<b>Alel</b>							
wt		56 (63,6)	57 (91,9)				
mt		32 (36,4)	5 (8,1)	<0,001	0,32	6,51	(2,37-17,92)
ukupno		88 (100,0)	62 (100,0)				

KRATICE: P = Fisherov egzaktni test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha); učinak = standardizirana mjera veličine učinka dana za statistički značajne rezultate:  $\phi$  koeficijent asocijacije; OR = omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojava za dani genotip/alel sa svim ostalima kao referentnom grupom; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

Učestalost genotipa *CYP2C9\*1/\*1* bila je statistički značajno manja u skupini bolesnika s nuspojavama u odnosu na one iz kontrolne skupine (Fisherov egzaktni  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,51$ ). Pri tome je u skupini bolesnika s nuspojavama bio prisutan u 16/44 (36,4%), dok je u kontrolnoj skupini bio prisutan kod njih 27/31 (87,1%). Genotip *CYP2C9\*1/\*2* je bio statistički značajno učestaliji u skupini s nuspojavama (Fisherov egzaktni  $p = 0,005$ ;  $\phi = 0,33$ ), gdje je bio prisutan kod 13/44 (29,5%) bolesnika, dok je u kontrolnoj skupini bio prisutan kod njih 1/31 (3,2%).

Na razini alela, prevalencija alela *CYP2C9\*1* bila je statistički značajno niža u skupini pacijenata koji su imali nuspojave na antiepileptike u odnosu na kontrolnu skupinu (Fisherov egzaktni  $p < 0,001$ ;  $\phi = 0,32$ ). U skupini pacijenata s nuspojavama, prevalencija ovih alela bila je 56/88 (63,6%) u odnosu na 57/62 (91,9%) u kontrolnoj skupini. Kod pacijenata s nuspojavama utvrđena je statistički značajno viša prevalencija alela *CYP2C9\*2* (Fisherov egzaktni  $p = 0,013$ ;  $\phi = 0,21$ ) te alela *CYP2C9\*3* (Fisherov egzaktni  $p < 0,009$ ;  $\phi = 0,22$ ) nego kod onih bez nuspojava. Prevalencija alela *CYP2C9\*2* u skupini pacijenata s nuspojavama iznosila je 17/88 (19,3%) u odnosu na 3/62 (4,8%) u kontrolnoj skupini, a prevalencija alela *CYP2C9\*3* u skupini pacijenata s nuspojavama iznosila je 15/88 (17,0%), dok je u kontrolnoj skupini iznosila 2/62 (3,2%).

**5.2.10. Utjecaj polimorfizama ABCB1 G2677T/A i C3435T na razvoj nuspojava na terapiju antiepilepticima**

**Tablica 52.** Učestalost nuspojava s obzirom na alele i genotipove ABCB1 G2677T/A i C3435T

	n(%)	nuspojave	kontrole	P	učinak	OR	95% CI
<b>Genotip G2677T/A</b>							
GG		14 (31,8)	7 (22,6)	0,441		1,60	(0,56-4,59)
GT		17 (38,6)	15 (48,4)	0,480		0,67	(0,27-1,70)
TT		13 (29,5)	9 (29,0)	>0,999		1,03	(0,37-2,82)
ukupno		44 (100,0)	31 (100,0)				
<b>Alel</b>							
T		43 (48,9)	33 (53,2)				
G		45 (51,1)	29 (46,8)	0,622		1,19	(0,62-2,28)
ukupno		88 (100,0)	62 (100,0)				
<b>Genotip C3435T</b>							
TT		17 (38,6)	9 (29,0)	0,464		1,54	(0,58-4,12)
CC		13 (29,5)	9 (29,0)	>0,999		1,03	(0,37-2,82)
CT		14 (31,8)	13 (41,9)	0,465		0,65	(0,25-1,68)
ukupno		44 (100,0)	31 (100,0)				
<b>Alel</b>							
C		40 (45,5)	31 (50,0)				
T		48 (54,5)	31 (50,0)	0,621		1,20	(0,63-2,30)
ukupno		88 (100,0)	62 (100,0)				

KRATICE: P = Fisherov egzaktni test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha); učinak = standardizirana mjera veličine učinka dana za statistički značajne rezultate;  $\phi$  koeficijent asocijacije; OR = omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojava sa svim ostalim genotipovima kao referentnom grupom u slučaju genotipova te s T alelom u slučaju alela; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

Između pacijenata s nuspojavama i onih bez nuspojava nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti niti jednog od alela ili genotipova *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T*.

**Tablica 7.** Učestalost nuspojava s obzirom na haplotipove *ABCB1 G2677T/A* i *C3445T*

	G2677T/A	C3435T	nuspojave	kontrole	P
H1	T	T	40,8 (46,4)	27,8 (44,9)	0,854
H2	G	C	37,8 (43,0)	25,8 (41,6)	0,870
H3	G	T	7,2 (8,2)	3,2 (5,1)	0,472
H4	T	C	2,2 (2,5)	5,2 (8,4)	0,101
ukupno			88 (100,0)	62 (100,0)	

KRATICE: P = hi-kvadrat test; razina statističke značajnosti, odnosno vjerojatnost pogreške tipa I (alpha)

Između pacijenata s nuspojavama i onih bez nuspojava nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti niti jednog haplotipa.



**Tablica 8.** Predikcija nuspojave na temelju *CYP2C9*, *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T*

n(%)	nuspojave	kontrole	OR <sub>uv</sub>	95% CI	OR <sub>mv</sub>	95% CI
<i>CYP2C9</i>						
*1/*1	16 (36,4)	27 (87,1)				
*1/*2	13 (29,5)	1 (3,2)	21,94	(2,62-183,84)	21,51	(2,45-188,69)
*1/*3	11 (25,0)	2 (6,5)	9,28	(1,82-47,30)	11,33	(2,04-62,82)
*2/*2	1 (2,3)	1 (3,2)	1,69	(0,10-28,88)	1,09	(0,05-21,62)
*2/*3	2 (4,5)	0 (0,0)	-		-	
*3/*3	1 (2,3)	0 (0,0)	-		-	
ukupno	44 (100,0)	31 (100,0)				
<i>ABCB1 G2677T</i>						
GT	17 (38,6)	15 (48,4)				
TT	13 (29,5)	9 (29,0)	1,28	(0,43-3,82)	0,74	(0,10-5,42)
GG	14 (31,8)	7 (22,6)	1,77	(0,56-5,53)	3,56	(0,58-21,98)
ukupno	44 (100,0)	31 (100,0)				
<i>MDR1 C3435T</i>						
CT	14 (31,8)	13 (41,9)				
CC	13 (29,5)	9 (29,0)	1,34	(0,43-4,18)	0,83	(0,14-4,95)
TT	17 (38,6)	9 (29,0)	1,75	(0,58-5,30)	3,24	(0,44-24,02)
ukupno	44 (100,0)	31 (100,0)				

KRATICE: OR<sub>uv</sub> = univarijatni omjer izgleda (engl. odds ratio) za razvoj nuspojave; OR<sub>mv</sub> = multivarijatni omjer izgleda; 95% CI = 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

Univarijatom logističkom regresijom (samo na razini CYP2C9) utvrđeno je da pacijenti s genotipom *CYP2C9\*1/\*2* imaju preko 20 puta veće izgleda za razvoj nuspojava u odnosu na pacijente s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* (OR=21,94; 95% CI: 2,62-183,84). Također je utvrđeno da pacijenti s *CYP2C9\*1/\*3* genotipom imaju preko 9 puta veće izgleda a razvoj nuspojava u odnosu na one s genotipom *CYP2C9\*1/\*1* genotipom (OR=9,28; 95% CI=1,82-47,30).

Kad su *CYP2C9*, *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T* korišteni simultano za predikciju razvoja nuspojava u multivarijatom logističkoj regresiji, utvrđeni su preko 20 puta veći izgledi za razvoj nuspojava kod pacijenata s genotipom *CYP2C9\*1/\*2* u odnosu na pacijente s *CYP2C9\*1/\*1* (OR=21,51; 95% CI: 2,45-188,69) te preko 11 puta veći kod pacijenata s *CYP2C9\*1/\*3*, u odnosu na pacijente s genotipom *CYP2C9\*1/\*1*(OR=11,33; 95% CI=2,04-62,82 ). *ABCB1 G2677T/A* i *C3435T* nisu bili statistički značajno povezani s nuspojavama niti u univarijatom, niti u multivarijatom analizi.

## 6. Rasprava

---

Polimorfni metabolički enzimi i transportni proteini mogu značajno modulirati farmakokinetičke parametre lijekova i biti razlogom nastanku nuspojava tipa A. Postoji velika interindividualna varijabilnost u aktivnosti enzima CYP2C9 koja rezultira različitim terapijskim učincima upravo onih lijekova koje metabolizira CYP2C9 [291]. Ta varijabilnost je od posebnog značaja za primjenu lijekova s uskim terapijskim rasponom, poput varfarina, acenokumarola, fenitoina i glipizida [30]. Enzim CYP2C9 se smatra jednim od važnijih enzima iz obitelji enzima CYP, a specifičan je za supstrate od kojih su mnogi noviji lijekovi različitog kemijskog entiteta (npr. lipofilne baze). Procjenjeno je da se 15-20 % lijekova u kliničkoj primjeni metabolizira barem dijelom enzimom CYP2C9 [23]. Za metabolizam prvog prolaska većine oralno uzetih lijekova, najvažniju ulogu ima ekspresija jetrenih enzima, dok niska ekspresija intestinalnih enzima nije toliko značajna.

Pregledom Nacionalne baze za nuspojave lijekova Agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) za period 2005.-2011. ustanovljeno je da je 8% lijekova u bazi supstrat CYP2C9 i CYP2C9 i Pgp na koje otpada 69% svih prijava nuspojava što ukazuje na značajnu ulogu ovog metaboličkog puta i transporta (vidi slike 5 i 6). I ranije su studije ukazivale na značajnu ulogu polimorfni metaboličkih enzima u nastanku nuspojava pa je tako Phillips sa suradnicima [5] ustanovio da se od svih lijekova koji se najčešće spominju u studijama o nuspojavama njih oko 60% metabolizira enzimima koji pokazuju različite oblike genetičkog polimorfizma odgovornog za smanjenu metaboličku aktivnost. Naši rezultati to potvrđuju. Smatramo da među tim polimorfni metaboličkim enzimima CYP2C9 ima vrlo bitnu ulogu, što potvrđuje i naš nalaz koji ukazuje da cijela skupina lijekova supstrata CYP2C9 ima statistički značajno više ozbiljnih nuspojava u odnosu na ostale prijave u bazi (tablice 18 i 28). Također je ustanovljeno i za skupinu nesteroidnih protuupalnih lijekova da imaju statistički značajno više ozbiljnih nuspojava u odnosu na ostale prijave (tablica 14), a isti nalaz je ustanovljen i za varfarin (tablica 24). Na važnost metaboličkog enzima CYP2C9 ukazuje i nalaz povezanosti većeg broja lijekova supstrata CYP2C9 u istovremenoj primjeni s većim brojem nuspojava poremećaja probavnog trakta a koje spadaju u kategoriju ozbiljnih nuspojava (krvarenje) što je prikazano na slici 11.

Provedenim farmakogenomskim istraživanjem je također ukazano na bitnu ulogu polimorfizama CYP2C9 u učinkovitosti i nastanku nuspojava lijekova koji su najvećim dije-

lom supstrati ovog enzima: varfarin (tablica 39), nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAR) (tablica 43), antiepileptici - fenitoin, fenobarbiton i valproična keselina (tablica 51). Na temelju provedenog istraživanja analize nacionalne baze nuspojava i farmakogenomskom analizom pacijenta koji su razvili nuspojavu (vidi tablicu 34) možemo zaključiti da se polimorfizmi metaboličkog enzima CYP2C9\*2 i \*3 mogu smatrati farmakogenetičkom predispozicijom za nastanak ozbiljnih nuspojava lijekova koji se najvećim dijelom metaboliziraju putem enzima CYP2C9. To znači da se dio ovih nuspojava koje spadaju u tip A nuspojava mogao predvidjeti da je prije uzimanja lijeka provedena genotipizacija CYP2C9. Tim bolesnicima je trebalo prema genotipu korigirati tj. smanjiti dozu prema algoritmima i preporukama koje su objavljene u literaturi od strane različitih društava za farmakogenetiku/farmakogenomiku poput algoritma za doziranje varfarina koji se može naći na stranicama <http://www.WarfarinDosing.org>. Algoritmi su upravo od posebne važnosti za navedene lijekove s uskim terapijskim rasponom.

Enzim CYP2C9 je polimorfan [36]. Veliki broj kliničkih studija upućuje na utjecaj polimorfizma *CYP2C9* kako na klirens tako i na učinkovitost terapije lijekovima koji su supstrati enzima CYP2C9. Kumarinski antikoagulansi, derivati sulfonilureje, inhibitori AT-II, fenitoin i nekoliko nesteroidnih protuupalnih lijekova su najčešće ispitivani lijekovi. U literaturi postoji niz dokaza o povezanosti polimorfizama CYP2C9 s nuspojavama varfarina [40,77,90] fenitoina [53,130,133], nesteroidnih protuupalnih lijekova [143,156,157,163]. Kako je učestalost sporih metabolizatora (nosioca oba mutirana alela *CYP2C9*) oko 3,5%, a učestalost intermedijarnih metabolizatora (nosioci jednog mutiranog i jednog wt alela) oko 30% u hrvatskoj populaciji, [292] polimorfizam CYP2C9 ima kliničku značajnost i sve je više studija koje govore u prilog genotipizacije s obzirom na omjer cijene i koristi („*cost-benefit*“), i postoji sve više dokaza da klinička farmakogenetika ima važnu ulogu u zdravstvenoj njezi, te je u nekim slučajevima prijeko potrebna. Danas se testovi genotipizacije najčešće provode u slučaju primjene varfarina, acenokumarola i fenitoina. Od njih, varfarin je najistraživaniji a prema predloženim algoritmima, koji uz druge parametre uključuju i genotipove *CYP2C9* i *VKORC1*, može se odrediti doza varfarina za pojedinog bolesnika [84,85]. Postoje znanstveno utemeljeni razlozi za provođenje genotipizacije CYP2C9 da bi se odredila početna doza ili doza održavanja fenitoina, prvenstveno zato što koncentracija jako ovisi o genotipu, povezanosti genotipa s djelovanjem fenitoina, te snažna veza između koncentracije i učinka fenitoina. U slučaju fenitoina također je potrebno uzeti u obzir i drugi metabolički put ovog lijeka a to je CYP2C19 koji je također bitan u metabolizmu fenobarbitona i valproata.

Do sada istraživanja o važnosti genotipizacije u primjeni antidijabetika nisu polučila jasne rezultate. Dostupni podaci ne idu u korist testovima genotipizacije *CYP2C9* za dijabetičke bolesnike. Studije na zdravim ispitanicima nisu pronašle povezanost između određenog genotipa i koncentracije inzulina ili glukoze. Potrebno je provesti dodatna ispitivanja i ciljano praćenje bolesnika oboljelih od dijabetesa, jer oni imaju promjenjenu glikemijsku regulaciju u usporedbi s zdravim ispitanicima. Nadalje, iako su retrospektivne studije pokazale da se hipoglikemija razvila kod ispitanika s varijantnim alelima *CYP2C9*, u većini slučajeva (65%) se pojavila i kod bolesnika s divljim tipom alela *CYP2C9* [293]. Nije uočena povezanost između koncentracija derivata sulfonilureja i njihovog učinka. Međutim, prekomjerno i pretjerano korištenje lijekova derivata sulfonilureje je povezano s morbiditetom i mortalitetom koji je ovisan o pre niskim i previsokim dozama lijeka, što upućuje na daljnja istraživanja. U nacionalnoj bazi nuspojava lijekova nije zabilježen veliki broj prijava za oralne antidijabetike jer se u praksi smatra da je hipoglikemija „normalna“ pojava u terapiji dijabetesa i u većini slučajeva se niti ne prijavljuje. Rezultati istraživanja nisu pokazali statističku značajnu razliku u ozbiljnosti nuspojava oralnih antidijabetika u odnosu na ostale lijekove u bazi (tablica 16). U istraživanju smo imali premali broj prijava nuspojava na ove lijekove tako da nije rađena farmakogenomska analiza u ovih pacijenata.

Također, i dalje nije jasno da li se određivanjem genotipa *CYP2C9* može predvidjeti učinak terapije blokatorima angiotenzinskih receptora, premda istraživanja upućuju da genotip *CYP2C9*\*3/\*3 može biti povezan s lošijim odgovorom na terapiju losartanom. U analizi baze nuspojava lijekova također nemamo pokazatelje da su nuspojave sartana ozbiljnije u odnosu na ukupnu bazu nuspojava (tablica 15).

Farmakogenetičko profiliranje može utjecati da se određeni lijekovi propisuju samo pojedincima s pogodnim genetičkim profilom. To bi značilo da za već postojeće registrirane lijekove odobrene u regulatornim agencijama i lijekove u razvoju, za pojedine fenotipske skupine bolesnika s određenim genetičkim profilom, treba proširiti informaciju o lijeku o mogućim rizicima razvoja nuspojava lijekova, te o potrebi provedbe genetičkog testiranja prije započinjanja terapije. I ovo istraživanje upućuje na moguće koristi od primjene farmakogenetičkih analiza u prevenciji barem dijela nuspojava lijekova, prvenstveno nuspojava tipa A. Iako genetičko testiranje i određivanje polimorfizma *CYP2C9* nije rutinska praksa, smatra se da farmakogenetičko testiranje *CYP2C9* ima potencijal u unaprijeđenju kvalitetnijeg korištenja lijekova, poboljšanja djelotvornosti i sigurnosti lijekova, kako onih već postojećih tako i onih koji su u fazi razvoja. Da bi farmakogenetičko testiranje bilo klinički korisno, mora pos-

tojati dovoljno dokaza da se iz dobivenih genetičkih informacija mogu izvesti pouzdani zaključci koji daju točnu i smislenu informaciju kliničarima. Mislimo da je i ova studija doprinos implementaciji genotipizacije u primjeni nekih lijekova supstrata CYP2C9, prvenstveno onih s uskim terapijskim rasponom. Kako su istraživanja u području farmakogenomike u zamahu, daljnji napredak se može očekivati u skoroj budućnosti. Etnička pripadnost se uvijek mora uzeti u obzir kada se farmakogenetički podaci koriste u svrhu donošenja važnih kliničkih odluka. Učestalost pojavnosti varijantnih alela *CYP2C9* varira u populaciji s obzirom na rasu i etničko podrijetlo [13]. Genotipizacija i određivanje alelnih varijanti *CYP2C9* je relativno jednostavan i jeftin test, kojim se mogu spriječiti nuspojave lijekova koji su supstrati enzima CYP2C9. Nadalje, genotipiziranje i/ili fenotipiziranje se može provesti jednom u životu, kada se smatra da je za to najpovoljniji trenutak s obzirom na omjer cijene i koristi. Međutim, rutinski testovi genotipizacije nisu uvijek sasvim točni, jer ne uključuju nove i rijetke varijante ispitivanog gena, čija rasprostranjenost ovisi o etničkoj pripadnosti. U tim situacijama alternativno rješenje je provesti test fenotipizacije koji može dati važne informacije kada postoji jaka povezanost genotipa s izraženim fenotipom.

Kako su podaci o sigurnosti uporabe novog lijeka oskudni, važno je procijeniti koliki bi mogao biti utjecaj polimorfnog enzima, pa tako i CYP2C9 na metabolizam a time i sigurnu primjenu lijekova supstrata. Ako je taj utjecaj velik vjerojatnost nastanka nuspojava na lijek je visoka i u tim situacijama postoji potreba za fenotipiziranjem odnosno genotipiziranjem prije početka primjene lijeka da bi se mogla individualizirati, korigirati odnosno smanjiti doza u sporih metabolizatora. Postoji mnoštvo *in vitro* modela koji se koriste za određivanje relativnog doprinosa ili učešća pojedinog polimorfnog enzima u metabolizmu nekog lijeka. Postoje i različiti algoritmi za prilagodbu doze. Gibbs sa suradnicima [294] je predložio slijedeću jednadžbu za izračunavanje omjera vrijednosti AUC kod sporih (PM) i brzih metabolizatora (EM):  $AUC_{PM}/AUC_{EM} = 1/1 - f_{m(CYP2C9)}$ . Prema ovoj jednadžbi, povezanost između udjela lijeka koji se metabolizira enzimom CYP2C9 ( $f_{m(CYP2C9)}$ ) i omjera vrijednosti AUC sporih i brzih metabolizatora ili razlika u klirensu postaje značajna kada doprinos enzima CYP2C9 u metabolizmu lijeka iznosi više od 60% [294]. Na primjer, ako je udio enzima CYP2C9 u metabolizmu lijeka 20% i 50%, prema jednadžbi se predviđa da će vrijednost AUC za fenotip sporih metabolizatora u odnosu na fenotip brzih metabolizatora biti 1,25 te 2 puta veća. Za vrijednosti učešća enzima CYP2C9 koje su veće od 60% dolazi do supraproportionalnog povećanja omjera vrijednosti AUC između sporih i brzih metabolizatora, sve dok vrijednost  $f_m$  CYP2C9 ne dostigne 100% [22]. Zbog nelinearne povezanosti učešća

CYP2C9 i omjera vrijednosti AUC za fenotip brzog i sporog metabolizma, te razlika u klirensu, samo mala promjena u visini učešća enzima CYP2C9 može rezultirati velikim razlikama farmakokinetičkih parametra između fenotipa brzih i sporih metabolizatora, kada vrijednost poraste iznad 60%! Smatra se da bi samo za lijek s vrlo uskim terapijskim rasponom (npr. varfarin) trebalo prilagoditi dozu u slučaju kada se izloženost lijeku poveća do 2 puta. Zbog velike interindividualne varijabilnosti u klirensu mnogih lijekova supstrata enzima CYP2C9, smatra se da razlike AUC u brzih i sporih metabolizatora koje iznose 2 do 2,5 puta ne bi smjele predstavljati problem za većinu novijih lijekova koji nemaju uzak terapijski raspon [294]. U suprotnom, ako prethodno postoje informacije o sigurnosti korištenja lijeka ili drugačiji zaključci temeljeni na prijašnjim iskustvima za tu skupinu lijekova, može se utvrditi točnija granica za određivanje pojedinačne doze za fenotip sporih i brzih metabolizatora (npr. ako novi lijek ima uzak terapijski raspon tada donja granica treba biti niža).

Pretragom Nacionalne baze nuspojava lijekova HALMED-a ustanovljeno je da od ukupnog broja lijekova u bazi oko 2% otpada na lijekove supstrate Pgp. Taj nalaz ukazuje na ulogu Pgp u interakcijama lijekova koje rezultiraju neželjenim učincima, a što je potvrđeno i u ranijim istraživanjima [281]. Također smo uočili važnu interakciju ciklosporina s fluvastatinom a koja je rezultirala nuspojavama mišićno koštanog sustava (mialgija, rabdomioliza), sa statistički značajno većim brojem ozbiljnih nuspojava u odnosu na ostale lijekove u bazi. Nasuprot ovom nalazu interakcije ciklosporina s atorvastatinom i simvastatinom nisu rezultirale značajno većim brojem ozbiljnih nuspojava od očekivanog. Ovaj nalaz možemo objasniti činjenicom da je fluvastatin supstrat polimorfnog CYP2C9 koji može imati značajan utjecaj na farmakokinetiku fluvastatina, dok u metabolizmu atorvastatina i simvastatina polimorfizam metaboličkog enzima CYP3A4 ne modulira farmakokinetičke parametre atorvastatina i simvastatina. Ove pretpostavke na temelju dobivenih rezultata svakako bi trebalo istražiti na većem broju ispitanika.

Od lijekova supstrata Pgp i CYP2C9 najveći broj prijava zabilježen je za diazepam i alprazolam koji u odnosu na ostale prijave u bazi statistički značajno imaju veći broj ozbiljnih nuspojava nego što se očekuje prema ostalim lijekovima, te ona raste s brojem istovremeno uzetih lijekova s aktivnom supstancom diazepam ( $p < 0,002$ ). S obzirom da su ovi lijekovi i supstrati CYP2C9 i većim djelom CYP2C19, polimorfizam ovih enzima vrlo vjerojatno doprinosi nastanku ozbiljnih nuspojava.

U ovom istraživanju nismo dokazali povezanost genskih varijanti *ABCB1/MDR1* C3435T i G2367T/A s nastankom nuspojava (tablica 36). Premda je za neke varijante gena *ABCB1* uočena razlika u distribuciji alela i genotipova između skupine ispitanika s nuspojavama i skupine koja nije razvila nuspojave, ta razlika nije dosegla statističku značajnost u skupini koja je uključivala sve ispitivane supstrate *CYP2C9*. Razlog je što za neke lijekove poput ispitivanih antiepileptika nije sasvim jasno da li su supstrati P-glikoproteina. Međutim u odvojenim testiranjima pojedinih skupina lijekova statistički značajna povezanost polimorfizama *ABCB1* potvrđena je za varfarin i fluvastatin. Za varfarin i u najnovijoj literaturi nalazimo jednu studiju koja je ispitivala povezanost polimorfizma *MDR1 C3435T* s terapijskom dozom varfarina u bolesnika s trombofilijom [295]. Autori ističu da je genotip 3435TT bio povezan s potrebama viših doza varfarina. I u našem ispitivanju su ispitanici bez nuspojava na terapiju varfarinom imali češće genotip 3435TT, što znači da su mogli podnositi i više doze varfarina., međutim ta razlika na ovom relativno malom uzorku nije dosegla statističku značajnost. Međutim naša studija je našla statistički značajnu povezanost genotipa 2677GG s većom učestalosti ozbiljnih nuspojava dok su ispitanici bez nuspojava bili češće nosioci genotipa 2677TT. U slučaju fluvastatina se pokazalo da pacijenti s genotipom *ABCB1 2677TT* imaju preko 3 puta veće izgleda za razvoj nuspojava u odnosu na pacijente s GT genotipom. Kako do sada nije bilo jednoznačnih dokaza da je fluvastatin supstrat Pgp ovaj nalaz ukazuje na moguću ulogu Pgp u bioraspoloživosti fluvastatina. Kako je i ciklosporin supstrat a ujedno i inhibitor Pgp naš nalaz predstavlja doprinos boljem razumijevanju nastanka interakcija ova dva lijeka i ujedno pojašnjava statistički značajno veći broj prijava ozbiljnih nuspojava koje se odnose upravo na kombinaciju ciklosporina i fluvastatina, pri čemu je ovo istraživanje pokazalo da su ozbiljne nuspojave češće u nosioca genotipa s alelima niže aktivnosti (*ABCB1 2677TT i 3435TT*) u kojih je interakcija fluvastatina i ciklosporina na razini Pgp značajnija. Nalaz dobiven u ovom istraživanju je vrijedan pa bi ga svakako trebalo potvrditi na većoj skupini ispitanika. Premda je Pgp vrlo važan u bioraspoloživosti mnogih lijekova supstrata a polimorfizmi moduliraju ekspresiju i funkciju proteina teško je procijeniti učinke polimorfizama u farmakoterapiji. I drugi autori su isticali da je teško procijeniti ukupan učinak transportnih proteina kako na farmakokinetičke parametre tako i na učinkovitost/nuspojave terapije upravo zbog složenosti odnosa lijekova supstrata i tih različitih bioloških barijera [244]. Postoji visoka specifičnost za različite lijekove supstrate. Nove studije također naglašavaju i na značaj interakcija lijekova na razini Pgp. Kako je u ovom istraživanju ipak uočena razlika u distribuciji alela i genotipova *ABCB1* smatramo da bi bilo vrijedno i znanstveno opravdano ispitivanje proširiti na dobro definirane homogene skupine ispitanika. Iz skupine lijekova su-



patrata Pgp najviše prijava se odnosi na amlodipin, premda one ne spadaju u ozbiljne nuspojave, već su statistički značajno manje ozbiljne od ostalih prijava u bazi.

Informacije o prisutnosti polimorfizama u genima koji kodiraju metaboličke enzime su vrlo korisne za Nacionalne centre koji su zaduženi za farmakovigilanciju i mogu imati značajan doprinos u analizi uzročnih odnosa između suspektog lijeka i nastale nuspojave. Osim toga, bolesnika treba obavijestiti i poučiti o postojanju genetičkih polimorfizama koji su utjecali na pojavu neželjene reakcije na lijek, kako bi se u budućnosti takvi događaji mogli izbjeći odabirom odgovarajuće doze a po potrebi i promjenom lijeka. Te informacije mogu postati dio odgovora koji Nacionalni centri za nuspojave šalju liječnicima i farmaceutima i drugim zdravstvenim radnicima, odnosno samim pacijentima koji su prijavili nuspojavu. Ovo istraživanje pokazuje da je ta praksa zaživjela u Hrvatskoj. Premda u svojim začetcima ona se počela provoditi a rezultat je suradnje Agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED), odnosno Odsjeka za farmakovigilanciju (Nacionalnog centra za nuspojave) i Kliničke jedinice za farmakogenomiku i individualizaciju terapije u Kliničkom bolničkom centru Zagreb. Implementirana je strategija za identificiranje slučajeva u kojima se sumnja na farmakogenetičku ulogu u patogenezi neke nuspojave. Cilj je informirati prijavitelje nuspojave o mogućnosti genetičkog testiranja, odnosno na temelju tako prikupljenih podataka dati opće upute i smjernice svim zdravstvenim radnicima preko sredstava informiranja (internetske stranice HALMED-a, glasila za zdravstvene radnike, odnosno javnih pisanih i elektronskih medija i izravno pacijentima). Također ove informacije su izuzetno važne za izmjenu dokumenata o lijeku (Sažetak opisa svojstava lijeka i Upute koja se prilaže lijeku) putem izmjena koje provodi regulatorna agencija za lijekove (u Republici Hrvatskoj HALMED), tako da takve informacije postaju dio svakodnevne prakse koje su osnova sigurnoj uporabi lijekova (djelotvornost uz najmanji rizik razvoja nuspojave, posebno onih ozbiljnih). Anonimni rezultat testa se također pohranjuje i u Agenciji u svrhu interpretacije događaja i stvaranja baze podataka. Ta praksa ima dobre rezultate u nekim centrima u Europi i Americi a rezultate njihovih prospektivnih studija možemo naći u literaturi [21]. Tako nizozemska iskustva upućuju da Nacionalni centri za farmakovigilanciju mogu biti dobro polazište za farmakogenetičke studije, jer se mogu udružiti podaci iz različitih izvora u procjeni uzročnih veza između uzimanja lijeka i nuspojave. Studije pokazuju da je moguće provesti genotipizaciju na osnovu inicijativa iz Centara za farmakovigilanciju koji mogu djelovati samostalno ili u sklopu regulatornih tijela – agencija za lijekove, uz uvjet dostupnosti laboratorija koji su opremljeni prema zadanim standardima.

Primjena farmakogenomike u budućnosti ima veliki potencijal ali isto tako susreće se i sa značajnim izazovima.

Razvoj lijekova može postati učinkovitiji i jeftiniji uz primjenu genetičkih informacija. Farmakogenomika u nekim slučajevima omogućuje farmaceutskoj industriji da ponovo aktualizira lijekove koji nisu prošli u određenim fazama kliničkih pokusa, na način da se lijek primjeni za određene fenotipski definirane skupine bolesnika a ne cijelu populaciju (npr. isključiti spore metabolizatore).

Vrlo važan problem i izazov za budućnost je edukacija zdravstvenih profesionalaca. Većina nije prošla edukaciju iz područja farmakogenomike, stoga je veliki izazov dovesti farmakogenomiku uz krevet bolesnika („moving pharmacogenomics from bench to bedside“).

Potencijalna korist od farmakogenomskih informacija iz društvene perspektive ovisit će o jednostavnosti i primjenjivosti metoda za udovoljavanje medicinskih zahtjeva.

Medicinska potreba za određenim testiranjem prvenstveno ovisi o prevalenciji varijantnih alela u populaciji, upotrebi određenog lijeka u toj populaciji, težini i ozbiljnosti nuspojave lijeka i mogućnosti praćenja toksičnosti upotrebom dostupnih tehnologija. Genetičko testiranje može biti klinički opravdano samo ako postoji dovoljno dokaza koji potvrđuju da određeni varijantni aleli mogu biti pouzdani pokazatelji toksičnosti ili ukupnog ishoda terapije nekim lijekom. I konačno genetički test mora biti jednostavan za primjenu a kliničari moraju biti osposobljeni interpretirati dobiveni rezultat da bi testiranje bilo prihvaćeno i moglo zaživjeti u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Premda još uvijek nedostaje dosta informacija za široku primjenu farmakogenomike u kliničkoj praksi naši rezultati ipak upućuju na neke zaključke i korake koje kliničari trebaju razmotriti u slučaju kada propisuju lijekove s visokom incidencijom nuspojava:

1. Provjeriti da li se lijek podvrgava metabolizmu putem polimorfnih metaboličkih enzima.
2. Ustanoviti prevalenciju polimorfnih alela dotičnog metaboličkog enzima u bolesnikovoj populaciji, jer prevalencija može značajno varirati među različitim etničkim skupinama.

Ako genetička varijabilnost predstavlja značajan problem treba poduzeti slijedeće korake:

- Razmotriti mogućnost primjene drugog lijeka koji nije supstrat tog polimorfnog metaboličkog enzima.

- Savjetovati bolesnika da pažljivo prati moguće rane znakove nuspojave u početku primjene lijeka.
- Biti svjestan mogućih složenih nuspojava u slučaju primjene 2 ili više lijekova istovremeno, a koji mogu stupiti u interakcije s istim metaboličkim enzimom.
- U slučajevima (posebno kada pacijent ima nuspojavu i ne postoji alternativni lijek), treba razmotriti primjenu genotipizacije da bi se ustanovilo da li je manjkavi metabolički enzim uzrok uočene nuspojave a što bi moglo rezultirati preporukom za smanjenjem doze lijeka.

Na osnovu naših rezultata možemo zaključiti da je polimorfizam CYP2C9 povezan s nuspojavama lijekova supstrata i to prvenstveno kumarinskih antikoagulanata u našem slučaju varfarina, nesteroidnih protuupalnih lijekova, antiepileptika fenitoina, fenobarbitona i valproata. Polimorfizam ABCB1 može biti predispozicija nuspojavama varfarina i fluvastatina.

## 7. Zaključci

---

- Analizom Nacionalne baze za lijekove Agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) za razdoblje 2005-2011. godine utvrđeno je da se nuspojave na lijekove (bez cjepiva) pojavljuju u žena u više od 60% prijava, što je također pokazano za lijekove supstrata CYP2C9, supstrata CYP2C9 & Pgp, te supstrata Pgp.
- Šezdeset posto (60%) svih prijavljenih nuspojava u bazi i nuspojava za lijekove supstrate prijavljene su za odrasle osobe (od 17 do 69 godina starosti)
- Osam posto (8%) lijekova u bazi su supstrati CYP2C9, CYP2C9&Pgp ili samo transportnog proteina Pgp, a na njih se odnosi 69% svih prijava
- Nuspojave iz cijele grupe lijekova supstrata CYP2C9 imaju statistički značajno više ozbiljnih nuspojava u odnosu na ostale prijave u bazi ( $p < 0,0004$ )
- Nuspojave iz grupe lijekova nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAR) koji spadaju u lijekove supstrata CYP2C9 imaju statistički značajno više ozbiljnih nuspojava u odnosu na ostale prijave u bazi ( $p < 0,006$ )
- Što je veći broj lijekova supstrata CYP2C9 u istovremenoj primjeni veći je broj nuspojava poremećaja probavnog trakta te ih je značajno više ozbiljnih, što je i statistički značajno u odnosu na ostale lijekove u bazi ( $p < 0,006$ )
- Od supstrata koji se djelomično metaboliziraju putem CYP2C9 a istovremeno su supstrat Pgp najveći broj prijava zabilježen je za diazepam i alprazolam koji u odnosu na ostale prijave u bazi imaju statistički značajno veći broj ozbiljnih nuspojava nego što se očekuje prema ostalim lijekovima, te on raste s brojem istovremeno uzetih lijekova s aktivnom supstancom diazepam (p<0,002).
- Analizom nuspojava prema ozbiljnosti također se nalazi statistički značajno veći broj ozbiljnih nuspojava za varfarin (supstrat CYP2C9 i Pgp) u odnosu na ostale lijekove u čitavoj bazi ( $p = 0,00001$ ).
- U slučaju ciklosporina (supstrat Pgp) u kombinaciji s fluvastatinom (CYP2C9 i Pgp), u najvećem broju prijava se radilo o nuspojavama iz SOC-a „Poremećaji mišićno-koštanog sustava“. Povećani broj ozbiljnih nuspojava u ovoj kombinaciji u odnosu na ostale lijekove u bazi je i statistički značajan ( $p < 0,01$ ).

- Amlodipin kao supstrat Pgp je lijek s pojedinačno najviše prijavljenih nuspojava u Nacionalnoj bazi za ispitane supstrate. U odnosu na ozbiljnost prijavljenih nuspojava za amlodipin nuspojave prijavljene za ovaj lijek u odnosu na ostale lijekove u bazi značajno imaju manje ozbiljnih nuspojava ( $p=0,0001$ ).
- Skupina ispitanika na terapiji lijekovima supstratima metaboličkog enzima CYP2C9 koja je razvila neku od ozbiljnih nuspojava karakterističnih za te lijekove, u odnosu na ispitanike bez nuspojava bila je češće nosioc mutiranih alela koji određuju smanjenu funkciju enzima, tj. pripadali su češće intermedijarnom ili sporom metaboličkom fenotipu koji predstavlja predispoziciju za nagomilavanje lijeka u organizmu i razvoj nuspojava.
- U homogenim odvojenim skupinama ispitanika na terapiji varfarinom, nesteroidnim protuupalnim lijekovima, te antiepilepticima fenitoinom, fenobarbitonom ili valproičnom kiselinom koji su razvili neku od ozbiljnih nuspojava također je češće bio zastupljen intermedijarni i spori metabolički fenotip.
- Iz provedenog istraživanja možemo zaključiti da se polimorfizmi metaboličkog enzima CYP2C9\*2 i\*3 mogu smatrati farmakogenetičkom predispozicijom za nastanak ozbiljnih nuspojava lijekova koji se najvećim dijelom metaboliziraju putem enzima CYP2C9. To znači da se dio ovih nuspojava mogao predvidjeti da je prije uzimanja lijeka provedena genotipizacija CYP2C9. Tim bolesnicima treba prema genotipu korigirati, smanjiti dozu prema algoritmima i preporukama. To je posebno važno za lijekove s uskim terapijskim rasponom kao što su varfarin i fenitoin.
- U provedenom istraživanju nismo jasno pokazali da polimorfizmi transportnog P-glikoproteina mogu poslužiti kao farmakogenetički biljezi. Premda je za neke varijante gena ABCB1 uočena razlika u distribuciji alela i genotipova između skupine ispitanika s nuspojavama i skupine koja nije razvila nuspojavu, ta razlika nije dosegla statističku značajnost, osim u slučaju varfarina i fluvastatina ali upućuje da bi bilo vrijedno istraživanje proširiti na većim homogenim skupinama ispitanika.
- Nacionalni centri za farmakovigilanciju mogu biti dobro polazište za farmakogenetičke studije, jer se mogu udružiti podaci iz različitih izvora u procjeni uzročnih veza između uzimanja lijeka i nuspojave, te kao regulatorno tijelo mijenjati dokumentaciju o lijeku – Sažetak opisa svojstava lijeka i prateću Uputu za pacijenta i time dopri-

nijeti smanjenju pojavnosti ozbiljnih nuspojava lijekova i omogućiti najsigurniju primjenu lijeka i doze u dugotrajnoj primjeni.

## 8. Sažetak

---

Polimorfni metabolički enzimi i transportni proteini mogu značajno modulirati farmakokinetičke parametre lijekova i biti razlogom nastanku nuspojava tipa A. Stoga je cilj ovog istraživanja bio ispitati nuspojave lijekova supstrata metaboličkog enzima citokroma P450 CYP2C9 i transportnog P-glikoproteina (Pgp). Na temelju retrospektivno i prospektivno sakupljenih podataka o nuspojavama lijekova supstrata CYP2C9 i Pgp procijenili smo i ulogu polimorfizama u nastanku ozbiljnih nuspojava. Iz Nacionalne baze analizirane su sve prijave nuspojava na lijekove iz razdoblja 2005. – 2011. godine. Prijave koje su sadržavale lijekove supstrate CYP2C9, CYP2C9 i Pgp, odnosno lijekove koji su supstrati transportnog proteina Pgp uzete su za analizu ako su lijekovi čiji je klirens preko navedenog enzima veći od 10%, odnosno u razmatranje su uzeti i oni čiji je klirens putem CYP2C9 između 5 i 10%, a radi se o lijekovima koji se često koriste u kombinaciji s drugim lijekovima istovremeno kao što je to primjer kod acetilsalicilne kiseline. Iz baze obrađenih prijava nuspojava odabrana je skupina od 158 ispitanika s ozbiljnim nuspojavama na lijekove supstrate metaboličkog enzima CYP2C9. Birani su bolesnici koji su razvili nuspojave na lijekove koji se najvećim dijelom metaboliziraju putem enzima CYP2C9. To su prvenstveno bili antikoagulansi kumarinskog tipa, u našoj populaciji varfarin (n=30 ispitanika), nesteroidni protuupalni lijekovi ibuprofen, indometacin, diklofenak, piroksikam (n=32), antiepileptici fenitoin, fenobarbiton i valproična kiselina (n=44), fluvastatin (n=46), te oralni antidijabetici gliburid i glibenklamid (n=6). Skupini ispitanika s nuspojavama pridružena je skupina ispitanika bez nuspojava (n=155), koja je prema dobi spolu, bolestima i konkomitantnoj terapiji odgovarala skupini s nuspojavama. Provedena je genotipizacija *CYP2C9\*2\*3* te *ABCB1 2677G>T/A, 3435C>T*.

Analizom Nacionalne baze za nuspojave lijekova (HALMED), te provedbom farmakogenetičkih analiza utvrđeno je:

- da se nuspojave na lijekove (bez cjepiva) u više od 60% pojavljuju u žena, što je također pokazano za lijekove supstrate CYP2C9, supstrate CYP2C9 &Pgp, te supstrate Pgp
- 60% svih prijavljenih nuspojava u bazi i nuspojava za lijekove supstrate prijavljene su za odrasle osobe (od 17 do 69 godina starosti)
- 8% lijekova u bazi su supstrati CYP2C9, CYP2C9&Pgp ili samo transportnog proteina Pgp, a na njih se odnosi 69% svih prijava

- Nuspojave iz cijele grupe lijekova supstrata CYP2C9 imaju statistički značajno više ozbiljnih nuspojava u odnosu na ostale prijave u bazi ( $p < 0,0004$ )
- Nuspojave iz grupe lijekova nesteroidnih protuupalnih lijekova koji spadaju u lijekove supstrata CYP2C9 imaju statistički značajno više ozbiljnih nuspojava u odnosu na ostale prijave u bazi ( $p < 0,006$ ).
- Što je veći broj lijekova supstrata CYP2C9 u istovremenoj primjeni veći je broj nuspojava poremećaja probavnog trakta te ih je značajno više ozbiljnih, što je i statistički značajno u odnosu na ostale lijekove u bazi ( $p < 0,006$ )
- Od supstrata koji se djelomično metaboliziraju putem CYP2C9 a istovremeno su supstrat Pgp najveći broj prijava zabilježen je za diazepam i alprazolam koji u odnosu na ostale prijave u bazi imaju statistički značajno veći broj ozbiljnih nuspojava nego što se očekuje prema ostalim lijekovima, te on raste s brojem istovremeno uzetih lijekova s aktivnom supstancom diazepamom ( $p < 0,002$ ).
- Analizom nuspojava prema ozbiljnosti također se nalazi statistički značajno veći broj ozbiljnih nuspojava za varfarin (supstrat CYP2C9 i PGP) u odnosu na ostale lijekove u čitavoj bazi ( $p < 0,00001$ ).
- U slučaju ciklosporina (supstrat Pgp) u kombinaciji s fluvastatinom (CYP2C9 i Pgp), u najvećem broju prijava se radilo o nuspojavama iz SOC-a „Poremećaji mišićno-koštanog sustava“. Povećani broj ozbiljnih nuspojava u ovoj kombinaciji u odnosu na ostale lijekove u bazi je i statistički značajan ( $p < 0,01$ ).
- Amlodipin kao supstrat Pgp je lijek s pojedinačno najviše prijavljenih nuspojava u Nacionalnoj bazi za ispitane supstrate. U odnosu na ozbiljnost prijavljenih nuspojava za amlodipin nuspojave prijavljene za ovaj lijek u odnosu na ostale lijekove u bazi značajno imaju manje ozbiljnih nuspojava ( $p < 0,0001$ ).
- Skupina ispitanika na terapiji lijekovima supstratima metaboličkog enzima CYP2C9 koja je razvila neku od ozbiljnih nuspojava karakterističnih za te lijekove u odnosu na ispitanike bez nuspojava bila je češće nosioc mutiranih alela koji određuju smanjenu funkciju enzima, tj. pripadali su intermedijarnom ili sporom metaboličkom fenotipu koji predstavlja predispoziciju za nagomilavanje lijeka u organizmu i razvoj nuspojava.
- U homogenim odvojenim skupinama ispitanika na terapiji varfarinom, nesteroidnim protuupalnim lijekovima, te antiepilepticima fenitoinom, fenobarbitonom ili valproičnom kiselinom koji su razvili neku od ozbiljnih nuspojava također je češće bio zas-



tupljen intermedijarni i spori metabolički fenotip u odnosu na skupinu na istoj terapiji bez nuspojava.

- Iz provedenog istraživanja možemo zaključiti da se polimorfizmi metaboličkog enzima *CYP2C9\*2 i\*3* mogu smatrati farmakogenetičkom predispozicijom za nastanak ozbiljnih nuspojava lijekova koji se najvećim dijelom metaboliziraju putem enzima *CYP2C9*. To znači da se dio ovih nuspojava mogao predvidjeti da je prije uzimanja lijeka provedena genotipizacija *CYP2C9*. Tim bolesnicima treba prema genotipu prilagoditi, smanjiti dozu prema algoritmima i preporukama. To je posebno važno za lijekove s uskim terapijskim rasponom kao što su varfarin i fenitoin.
- U provedenom istraživanju nismo dokazali da polimorfizmi *Pgp (ABCB1)* mogu poslužiti kao farmakogenetički biljeg. Premda je za neke varijante gena *ABCB1* uočena razlika u distribuciji alela i genotipova između skupina ispitanika s nuspojavama i skupina koji nisu razvili nuspojavu, ta razlika nije dosegla statističku značajnost, osim u slučaju varfarina i fluvastatina, ali upućuje da bi bilo vrijedno istraživanje proširiti na većim homogenim skupinama ispitanika.
- Nacionalni centri za farmakovigilanciju mogu biti dobro polazište za farmakogenetičke studije, jer se mogu udružiti podaci iz različitih izvora u procjeni uzročnih veza između uzimanja lijeka i nuspojave, te kao regulatorno tijelo mijenjati dokumentaciju o lijeku – Sažetak opisa svojstava lijeka i prateću Uputu za pacijenta i time doprinijeti smanjenju pojavnosti ozbiljnih nuspojava lijekova i omogućiti najsigurniju primjenu lijeka i doze u dugotrajnoj primjeni.

## 9. Summary

---

### Abstract

Polymorphic metabolic enzymes and transport proteins can significantly modulate the pharmacokinetic parameters of medicinal products and therefore be a reason for the appearance of type A adverse reactions. The objective of this study was to test the adverse reactions to medicinal product substrates of the metabolic enzyme cytochrome P450 CYP2C9 and the transport P-glycoprotein (Pgp). Based on the retrospective and current collection of data on adverse drug reactions of the substrates CYP2C9 and Pgp, the role of polymorphism in the appearance of adverse reactions was estimated. All adverse reactions reported to the National database in the period 2005–2011 were analysed. Reports pertaining to drug substrates CYP2C9, CYP2C9 and Pgp, i.e. drugs with a substrate of the transport protein Pgp, were analysed if the drugs had a clearance via the said enzyme of greater than 10%, or if the clearance via CYP2C9 was between 5 and 10%, and there are drugs commonly used in combination with other drugs simultaneous, as is the case, for example, with acetylsalicylic acid. A group of 158 subjects with serious adverse reactions to drugs with a substrate of the metabolic enzyme CYP2C9 were selected from the adverse reactions database. The selected subjects experienced adverse reactions to drugs that were, for the most part, metabolised via the enzyme CYP2C9. These were primarily anticoagulants of the coumarin type, i.e. warfarin (n=30 subjects), nonsteroidal anti-inflammatory drugs ibuprofen, indomethacin, diclofenac, pyroxicam (n=32), anti-epileptics phenytoin, phenobarbitone and valproic acid (n=44), fluvastatin (n=46), and oral anti-diabetics glyburide and glibenclamide (n=6). In addition to the group of subjects with adverse reactions, a second group was selected of subjects without adverse reactions (n=155) and who corresponded to the adverse reaction group in terms of gender, diseases and concomitant therapy. Genotyping of *CYP2C9\*2\*3* and *ABCB1 2677G>T/A, 3435C>T* was conducted.

An analysis of the National Adverse Reactions Database (kept by HALMED), and subsequent pharmacogenetic analysis established the following:

- Adverse reactions to drugs (excluding vaccines) appear in women in more than 60% of cases, which has also been shown for drugs with the substrate CYP2C9, substrate CYP2C9 &Pgp, and substrate Pgp.

- 60% of all reported adverse reactions in the database and adverse reactions to drug substrates were reported for adults (aged 17 to 69 years).
- 8% of all drugs are based on the substrates CYP2C9, CYP2C9&Pgp or only the transport protein Pgp, while 69% of all reaction reports pertain to these drugs.
- Adverse reactions from the entire group of drug substrates CYP2C9 have a statistically significant higher incidence of serious adverse reactions in comparison to other reports in the database ( $p < 0.0004$ ).
- Adverse reactions from the drug group nonsteroidal anti-inflammatory drugs that have drug substrate CYP2C9 had a statistically significant higher incidence of serious adverse reactions in comparison to other reports in the database ( $p < 0.006$ ).
- The higher the number of drug substrates CYP2C9 in simultaneous use, the greater the number of adverse reactions relating to gastrointestinal disorders, with a statistically significant high incidence of serious adverse reactions in comparison to other drugs in the database ( $p < 0.006$ ).
- Of the substrates that are partially metabolised via CYP2C9 and which simultaneously have the substrate Pgp, the highest number of reports was received for diazepam and alprazolam which, in relation to other reports in the database, have a statistically significantly higher incidence of serious adverse reactions that is expected for other drugs, and that this increases with the number of drugs with the active compound diazepam taken simultaneously ( $p < 0.002$ ).
- An analysis of the adverse reactions in terms of their severity also shows a statistically significant increase in the number of serious adverse reactions to warfarin (substrate CYP2C9 and PGP) in relation to other drugs in the database ( $p < 0.00001$ ).
- In the case of cyclosporin (substrate Pgp) in combination with fluvastatin (CYP2C9 and Pgp), the largest number of reports were regarding adverse reactions from the group of skeleto-muscular disorders. The increased number of serious adverse reactions in this combination in comparison to other drugs in the database is statistically significant ( $p < 0.01$ ).
- Amlodipin has the substrate Pgp and is a drug with the highest number of reported adverse reactions in the National database for tested substrates. In relation to the severity of reported adverse reactions for amlodipin, the adverse reactions reported for this drug in comparison to other drugs in the database are significantly lower in terms of the severity of adverse reactions ( $p < 0.0001$ ).

- The group of subjects receiving therapy with drugs containing the substrates of the metabolic enzyme CYP2C9 and who developed one of the serious adverse reactions characteristic for these drugs, in comparison to the subjects without adverse reactions, were more often carriers of mutated alleles that determine reduced enzyme function, i.e. they belonged to the intermediate or slow metabolic phenotype that represents a predisposition for accumulation of the drug in the body and the development of adverse reactions.
- In the homogeneously separated groups of subjects receiving therapy of warfarin, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and anti-epileptics phenytoin, fenobarbiton or valproic acid, and who developed one of the serious adverse reactions, again these subjects were often intermediate and slow metabolic phenotypes in comparison to the group without adverse reactions receiving the same therapy.
- From the study, it can be concluded that the polymorphism of the metabolic enzymes CYP2C9\*2 and \*3 could be considered a pharmacogenetic predisposition for the appearance of serious adverse reactions to drugs that are primarily metabolised via the enzyme CYP2C9. That means that these adverse reactions could be predicted with the genotyping of CYP2C9 prior to taking the drugs. The therapy for these patients should be adapted to the genotype, and the dose reduced according to the algorithms and recommendations. This is especially important for drugs with a narrow therapeutic index, such as warfarin and phenytoin.
- The study did not prove that polymorphisms of Pgp (ABCB1) could serve as a pharmacogenetic marker. Though in some variations of the gene ABCB1 a difference in the distribution of alleles and genotypes was observed between groups of subjects with adverse reactions in comparison to those without adverse reactions, the difference was not statistically significant, with the exception of warfarin and fluvastatin; however, this indicates that it would be worthwhile expanding the research to larger homogenous groups of subjects.
- The National Pharmacovigilance Centre could be a good starting point for pharmacogenetic studies, as data from different sources could be brought together in the assessment of causal relationships between medicine use and adverse reasons. Also, as the regulatory body changes the medicinal product documentation, i.e. Summary of Product Characteristics and Patient Instructions for Use, the Centre could therefore

contribute to reducing the appearance of serious adverse reactions and enable the safest possible use of medicinal products and doses in long-term use.

## 10. Literatura

---

1. Macolić Šarinić V. Nuspojave lijekova i interakcije. U: Božidar Vrhovac ur.. *Interna medicina*. IV izdanje. Zagreb : Naklada Ljevak, 2008, str. 207-12.
2. Macolić Šarinić, V. Nuspojave lijekova i medicinskih proizvoda. U: Igor Francetić i Željko Reiner . *Farmakoterapijski priručnik*. 6. izdanje. Zagreb : Medicinska naklada, 2010, str. 11-18.
3. Edwards, Ralph I; Aronson, J K. Adverse drug reactions: Definitions, Diagnosis and Management. : *Lancet* 2000;356:1255-9.
4. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998;279:1200-5.
5. Phillips KA, Veenstra DL, Oren E, Lee JK, Sadee W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *JAMA* 2001;286:2270-9.
6. Zakon o lijekovima. Narodne novine, 2007. Svez. 71.
7. Zakon o izmjenama Zakona o lijekovima. Narodne novine, 2009. Svez. 45.
8. Zakon o izmjenama Zakona o lijekovima. Narodne novine, 2011. Svez. 124.
9. Pravilnik o farmakovigilanciji. Narodne novine, 2009. Svez. 125
10. Kumar V, Brundage RC, Oetting WS, Leppik IE, Tracy TS. Differential Genotype Dependent Inhibition of CYP2C9 in Humans. *Drug Metab Dispos* 2008;36(7):1242–1248.
11. Yoo HD, Lee YB. Interplay of pharmacogenetic variations in ABCB1 transporters and cytochrome P450 enzymes. *Arch Pharm Res*. 2011;34(11):1817-28.
12. Rendic S. Summary of information on human CYP enzymes A. Human P450 Metabolism Data. *Drug Metab Rev* 2002; 34(1-2):83-488.
13. Wang B, Wang J, Huang SQ, Su HH, Zhou SF. Genetic polymorphism of the human cytochrome P450 2C9 gene and its clinical significance. *Curr Drug Metab*. 2009;10(7):781-834.
14. Haufroid V. Genetic polymorphisms of ATP-binding cassette transporters ABCB1 and ABCC2 and their impact on drug disposition. *Curr Drug Targets*. 2011;12(5):631-46.

15. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: an opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. *J Intern Med* 2001;250:186-200.
16. Wolf C, Smith G, Smith R. Pharmacogenetics. *BMJ*. 2000;320:987-990.
17. Roses A. Pharmacogenetics and future drug development and delivery. *Lancet*. 2000;355:1358-1361.
18. Weinstein JN. Pharmacogenomics: teaching old drugs new tricks. *N Engl J Med*. 2000;343:1408-1409.
19. Evans W, Relling M. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science*. 1999;286:487-491.
20. Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet* 2000;356:1667-1671.
21. van Puijenbroek E, Conemans J, van Grootheest K. Spontaneous ADR reports as a trigger for pharmacogenetic research: a prospective observational study in the Netherlands. *Drug Saf* 2009;32(3):255-64.
22. Zhou SF, Zhou ZW, Huang M. Polymorphisms of human cytochrome P450 2C9 and the functional relevance. *Toxicology*. 2010;278:165-188.
23. Gray IC, Nobile C, Muresu R, Ford S, Spurr NK. A 2.4-megabase physical map spanning the CYP2C gene cluster on chromosome 10q24. *Genomics* 1995;28(2):328-32.
24. Yasar U, Lundgren S, Eliasson E, Bennet A, Wiman B, de Faire U, Rane A. Linkage between the CYP2C8 and CYP2C9 genetic polymorphisms. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 299:25–28.
25. Garcia-Martin E, Martinez C, Tabares B, Frias J, Agundez JA. Interindividual variability in ibuprofen pharmacokinetics is related to interaction of cytochrome P450 2C8 and 2C9 amino acid polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 76:119–127.
26. Speed WC, Kang SP, Tuck DP, Harris LN, Kidd KK. Global variation in CYP2C8-CYP2C9 functional haplotypes. *Pharmacogenomics J* 2009; 9:283–290.
27. Soars MG, Gelboin HV, Krausz KW, Riley RJ. A comparison of relative abundance, activity factor and inhibitory monoclonal antibody approaches in the characterization of human CYP enzymology. *Br J Clin Pharmacol* 2003;55:175–181.
28. Miners JO, Birkett DJ. Cytochrome P4502C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br J Clin Pharmacol*. 1998;45(6):525-38.
29. Kanebratt KP, Diczfalusy U, Bäckström T, Sparve E, Bredberg E, Böttiger Y, Andersson TB, Bertilsson L. Cytochrome P450 induction by rifampicin in healthy subjects:

- determination using the Karolinska cocktail and the endogenous CYP3A4 marker 4beta-hydroxycholesterol. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;84(5):589-94.
30. Scheen AJ. Drug interactions of clinical importance with antihyperglycaemic agents: an update. *Drug Saf.* 2005;28(7):601-31.
  31. Lu Y, Won KA, Nelson BJ, Qi D, Rausch DJ, Asinger RW. Characteristics of the amiodarone-warfarin interaction during long-term follow-up. *Am J Health Syst Pharm.* 2008 May 15;65(10):947-52.
  32. Heimark LD, Wienkers L, Kunze K, Gibaldi M, Eddy AC, Trager WF, O'Reilly RA, Goulart DA. The mechanism of the interaction between amiodarone and warfarin in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 1992 Apr;51(4):398-407.
  33. Zhou SF, Zhou ZW, Yang LP, Cai JP. Substrates, inducers, inhibitors and structure-activity relationships of human Cytochrome P450 2C9 and implications in drug development. *Curr Med Chem.* 2009;16(27):3480-675.
  34. Williams PA, Cosme J, Ward A, Angove HC, Matak Vinković D, Jhoti H. Crystal structure of human cytochrome P450 2C9 with bound warfarin. *Nature* 2003;424(6947):464-8.
  35. Wester MR, Yano JK, Schoch GA, Yang C, Griffin KJ, Stout CD, Johnson EF. The structure of human cytochrome P450 2C9 complexed with flurbiprofen at 2.0-Å resolution. *J Biol Chem.* 2004 Aug 20;279(34):35630-7.
  36. Linder MW, Prough RA, Valdes R. Pharmacogenetics: a laboratory tool for optimizing therapeutic efficiency. *Clin Chemistry* 1997;43(2 ):254-266.
  37. Pirmohamed M, Park BK. Cytochrome P450 enzyme polymorphisms and adverse drug reactions. *Toxicology* 2003;192(1):23-32.
  38. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics.* 2002 ;12(3):251-63.
  39. Sistonen J, Fuselli S, Palo JU, Chauhan N, Padh H, Sajantila A. Pharmacogenetic variation at CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 at global and microgeographic scales. *Pharmacogenet Genomics.* 2009;19(2):170-9.
  40. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet.* 1999 Feb 27;353(9154):717-9.
  41. Kidd RS, Straughn AB, Meyer MC, Blaisdell J, Goldstein JA, Dalton JT. Pharmacokinetics of chlorpheniramine, phenytoin, glipizide and nifedipine in an individual homozygous for the CYP2C9\*3 allele. *Pharmacogenetics.* 1999 ;9(1):71-80.



42. Ninomiya H, Mamiya K, Matsuo S, Ieiri I, Higuchi S, Tashiro N. Genetic polymorphism of the CYP2C subfamily and excessive serum phenytoin concentration with central nervous system intoxication. *Ther Drug Monit.* 2000 ;22(2):230-2.
43. Lindh JD, Holm L, Andersson ML, Rane A. Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements--a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol.* 2009;65(4):365-75.
44. Takahashi H, Wilkinson GR, Nutescu EA, Morita T, Ritchie MD, Scordo MG, Pengo V, Barban M, Padrini R, Ieiri I, Otsubo K, Kashima T, Kimura S, Kijima S, Echizen H. Different contributions of polymorphisms in VKORC1 and CYP2C9 to intra- and inter-population differences in maintenance dose of warfarin in Japanese, Caucasians and African-Americans. *Pharmacogenet Genomics.* 2006;16(2):101-10.
45. Mosher CM, Tai G, Rettie AE. CYP2C9 amino acid residues influencing phenytoin turnover and metabolite regio- and stereochemistry. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009 Jun;329(3):938-44.
46. van der Weide J, Steijns LS, van Weelden MJ, de Haan K. The effect of genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenytoin dose requirement. *Pharmacogenetics.* 2001;11(4):287-91.
47. Chen Y, Kissling G, Negishi M, Goldstein JA. The nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor cross-talk with hepatic nuclear factor 4alpha to synergistically activate the human CYP2C9 promoter. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005;314(3):1125-33.
48. Ferguson SS, LeCluyse EL, Negishi M, Goldstein JA. Regulation of human CYP2C9 by the constitutive androstane receptor: discovery of a new distal binding site. *Mol Pharmacol.* 2002;62(3):737-46.
49. Kramer MA, Rettie AE, Rieder MJ, Cabacungan ET, Hines RN. Novel CYP2C9 promoter variants and assessment of their impact on gene expression. *Mol Pharmacol* 2008;73(6):1751-60.
50. Daly AK, King BP. Pharmacogenetics of oral anticoagulants. *Pharmacogenetics* 2003; 13:1-6.
51. Ninomiya H, Mamiya K, Matsuo S, Ieiri I, Higuchi S, Tashiro N. Genetic polymorphism of the CYP2C subfamily and excessive serum phenytoin concentration with central nervous system intoxication. *Ther Drug Monit.* 2000 Apr;22(2):230-2.

52. Kidd RS, Curry TB, Gallagher S, Edeki T, Blaisdell J, Goldstein JA. Identification of a null allele of CYP2C9 in an African-American exhibiting toxicity to phenytoin. *Pharmacogenetics* 2001;11(9):803-8.
53. Brandolese R, Scordo MG, Spina E, Gusella M, Padrini R. Severe phenytoin intoxication in a subject homozygous for CYP2C9\*3. *Clin Pharmacol Ther* 2001;70(4):391-4.
54. Bozina N, Bradamante V, Lovrić M. Genetic polymorphism of metabolic enzymes P450 (CYP) as a susceptibility factor for drug response, toxicity, and cancer risk. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2009;60(2):217-42.
55. García-Martín E, Martínez C, Ladero JM, Agúndez JA. Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy individuals. *Mol Diagn Ther* 2006;10:29-40.
56. Wu L, Wang X, Xu W, Farzaneh F, Xu R. The structure and pharmacological functions of coumarins and their derivatives. *Curr Med Chem.* 2009;16(32):4236-60.
57. Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, Conzelmann E, Hörtnagel K, Pelz HJ, Lappegard K, Seifried E, Scharrer I, Tuddenham EG, Müller CR, Strom TM, Oldenburg J. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature.* 2004 Feb 5;427(6974):537-41.
58. Goodstadt L, Ponting CP. Vitamin K epoxide reductase: homology, active site and catalytic mechanism. *Trends Biochem Sci.* 2004 Jun;29(6):289-92.
59. Ufer M. Comparative pharmacokinetics of vitamin K antagonists: warfarin, phenprocoumon and acenocoumarol. *Clin Pharmacokinet.* 2005;44(12):1227-46.
60. Beinema M, Brouwers JR, Schalekamp T, Wilffert B. Pharmacogenetic differences between warfarin, acenocoumarol and phenprocoumon. *Thromb Haemost.* 2008;100(6):1052-7.
61. Ufer M, Svensson JO, Krausz KW, Gelboin HV, Rane A, Tybring G. Identification of cytochromes P450 2C9 and 3A4 as the major catalysts of phenprocoumon hydroxylation in vitro. *Eur J Clin Pharmacol.* 2004 ;60(3):173-82.
62. Manolopoulos VG, Ragia G, Tavridou A. Pharmacogenetics of coumarinic oral anticoagulants. *Pharmacogenomics.* 2010;11(4):493-6.
63. Stehle S, Kirchheiner J, Lazar A, Fuhr U. Pharmacogenetics of oral anticoagulants: a basis for dose individualization. *Clin Pharmacokinet.* 2008;47(9):565-94.

64. Bovill EG, Fung M, Cushman M. Vitamin K and oral anticoagulation: thought for food. *Am J Med* 2004;116(10):711-3.
65. Kuruvilla M, Gurk-Turner C. A review of warfarin dosing and monitoring. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2001;14(3):305-6.
66. Kaminsky LS, Zhang ZY. Human P450 metabolism of warfarin. *Pharmacol Ther* 1997;73(1):67-74.
67. Steward DJ, Haining RL, Henne KR, Davis G, Rushmore TH, Trager WF, Rettie AE. Genetic association between sensitivity to warfarin and expression of CYP2C9\*3. *Pharmacogenetics*. 1997;7(5):361-7.
68. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM, Rettie AE. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA*. 2002 ;287(13):1690-8.
69. Loebstein R, Yonath H, Peleg D, Almog S, Rotenberg M, Lubetsky A, Roitelman J, Harats D, Halkin H, Ezra D. Interindividual variability in sensitivity to warfarin-- Nature or nurture? *Clin Pharmacol Ther*. 2001 ;70(2):159-64.
70. Taube J, Halsall D, Baglin T. Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. *Blood* 2000;96(5):1816-9.
71. Herman D, Locatelli I, Grabnar I, Peternel P, Stegnar M, Mrhar A, Breskvar K, Dolzan V. Influence of CYP2C9 polymorphisms, demographic factors and concomitant drug therapy on warfarin metabolism and maintenance dose. *Pharmacogenomics J* 2005;5(3):193-202.
72. Takahashi H, Echizen H. Pharmacogenetics of warfarin elimination and its clinical implications. *Clin Pharmacokinet*. 2001;40(8):587-603.
73. Takahashi H, Echizen H. Pharmacogenetics of CYP2C9 and interindividual variability in anticoagulant response to warfarin. *Pharmacogenomics J* 2003;3(4):202-14.
74. Takahashi H, Wilkinson GR, Nutescu EA, Morita T, Ritchie MD, Scordo MG, Pengo V, Barban M, Padrini R, Ieiri I, Otsubo K, Kashima T, Kimura S, Kijima S, Echizen H. Different contributions of polymorphisms in VKORC1 and CYP2C9 to intra- and inter-population differences in maintenance dose of warfarin in Japanese, Caucasians and African-Americans. *Pharmacogenet Genomics*. 2006;16(2):101-10.
75. Gage BF, Eby C, Johnson JA, Deych E, Rieder MJ, Ridker PM, Milligan PE, Grice G, Lenzini P, Rettie AE, Aquilante CL, Grosso L, Marsh S, Langae T, Farnett LE, Vooora D, Veenstra DL, Glynn RJ, Barrett A, McLeod HL. Use of pharmacogenetic and

- clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther.* 2008 Sep;84(3):326-31.
76. Schwarz UI, Ritchie MD, Bradford Y, Li C, Dudek SM, Frye-Anderson A, Kim RB, Roden DM, Stein CM. Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *N Engl J Med.* 2008 6;358(10):999-1008.
  77. Sanderson S, Emery J, Higgins J. CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: a HuGENet systematic review and meta-analysis. *Genet Med.* 2005 Feb;7(2):97-104.
  78. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet.* 1999 Feb 27;353(9154):717-9.
  79. Scott SA, Edelman L, Kornreich R, Desnick RJ. Warfarin pharmacogenetics: CYP2C9 and VKORC1 genotypes predict different sensitivity and resistance frequencies in the Ashkenazi and Sephardi Jewish populations. *Am J Hum Genet.* 2008 Feb;82(2):495-500.
  80. Wen MS, Lee M, Chen JJ, Chuang HP, Lu LS, Chen CH, Lee TH, Kuo CT, Sun FM, Chang YJ, Kuan PL, Chen YF, Charng MJ, Ray CY, Wu JY, Chen YT. Prospective study of warfarin dosage requirements based on CYP2C9 and VKORC1 genotypes. *Clin Pharmacol Ther.* 2008 Jul;84(1):83-9.
  81. Borgiani P, Ciccacci C, Forte V, Romano S, Federici G, Novelli G. Allelic variants in the CYP2C9 and VKORC1 loci and interindividual variability in the anticoagulant dose effect of warfarin in Italians. *Pharmacogenomics.* 2007 Nov;8(11):1545-50.
  82. Wadelius M, Chen LY, Lindh JD, Eriksson N, Ghori MJ, Bumpstead S, Holm L, McGinnis R, Rane A, Deloukas P. The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting. *Blood.* 2009 Jan 22;113(4):784-92.
  83. Gu Q, Kong Y, Schneede J, Xiao YB, Chen L, Zhong QJ, Wang XF, Hao J, Chen BC, Chen JJ. VKORC1-1639G>A, CYP2C9, EPHX1691A>G genotype, body weight, and age are important predictors for warfarin maintenance doses in patients with mechanical heart valve prostheses in southwest China. *Eur J Clin Pharmacol.* 2010 Dec;66(12):1217-27.
  84. Takeuchi F, Kashida M, Okazaki O, Tanaka Y, Fukuda S, Kashima T, Hosaka S, Hiroe M, Kimura S, Kato N. Evaluation of pharmacogenetic algorithm for warfarin dose requirements in Japanese patients. *Circ J.* 2010 May;74(5):977-82.

85. Wells PS, Majeed H, Kassem S, Langlois N, Gin B, Clermont J, Taljaard M. A regression model to predict warfarin dose from clinical variables and polymorphisms in CYP2C9, CYP4F2, and VKORC1: Derivation in a sample with predominantly a history of venous thromboembolism. *Thromb Res.* 2010 Jun;125(6):e259-64.
86. Cavallari LH, Langae TY, Momary KM, Shapiro NL, Nutescu EA, Coty WA, Viana MA, Patel SR, Johnson JA. Genetic and clinical predictors of warfarin dose requirements in African Americans. *Clin Pharmacol Ther.* 2010 Apr;87(4):459-64.
87. Ferder NS, Eby CS, Deych E, Harris JK, Ridker PM, Milligan PE, Goldhaber SZ, King CR, Giri T, McLeod HL, Glynn RJ, Gage BF. Ability of VKORC1 and CYP2C9 to predict therapeutic warfarin dose during the initial weeks of therapy. *J Thromb Haemost.* 2010 Jan;8(1):95-100.
88. Lindh JD, Holm L, Andersson ML, Rane A. Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements--a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol.* 2009 Apr;65(4):365-75. Epub 2008 Nov 25.
89. Pautas E, Moreau C, Gouin-Thibault I, Golmard JL, Mahé I, Legendre C, Taillandier-Hérique E, Durand-Gasselín B, Houllier AM, Verrier P, Beaune P, Lorient MA, Siguret V. Genetic factors (VKORC1, CYP2C9, EPHX1, and CYP4F2) are predictor variables for warfarin response in very elderly, frail inpatients. *Clin Pharmacol Ther.* 2010 Jan;87(1):57-64.
90. Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, Brancaccio V, Ciampa A, Grandone E, Di Minno G. Genetic modulation of oral anticoagulation with warfarin. *Thromb Haemost.* 2000;84(5):775-8.
91. Lima MV, Ribeiro GS, Mesquita ET, Victor PR, Vianna-Jorge R. CYP2C9 genotypes and the quality of anticoagulation control with warfarin therapy among Brazilian patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2008 Jan;64(1):9-15.
92. Thijssen HH, Flinois JP, Beaune PH. Cytochrome P4502C9 is the principal catalyst of racemic acenocoumarol hydroxylation reactions in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos.* 2000 Nov;28(11):1284-90.
93. Pérez-Andreu V, Roldán V, López-Fernández MF, Antón AI, Alberca I, Corral J, Montes R, García-Barberá N, Ferrando F, Vicente V, González-Conejero R. Pharmacogenetics of acenocoumarol in patients with extreme dose requirements. *J Thromb Haemost.* 2010 May;8(5):1012-7.

94. Verde Z, Ruiz JR, Santiago C, Valle B, Bandrés F, Calvo E, Lucía A, Gómez Gallego F. A novel, single algorithm approach to predict acenocoumarol dose based on CYP2C9 and VKORC1 allele variants. *PLoS One*. 2010 Jun 18;5(6):e11210.
95. Schalekamp T, van Geest-Daalderop JH, de Vries-Goldschmeding H, Conemans J, Bernsen Mj M, de Boer A. Acenocoumarol stabilization is delayed in CYP2C93 carriers. *Clin Pharmacol Ther*. 2004 May;75(5):394-402.
96. Schalekamp T, Brassé BP, Roijers JF, Chahid Y, van Geest-Daalderop JH, de Vries-Goldschmeding H, van Wijk EM, Egberts AC, de Boer A. VKORC1 and CYP2C9 genotypes and acenocoumarol anticoagulation status: interaction between both genotypes affects overanticoagulation. *Clin Pharmacol Ther*. 2006 Jul;80(1):13-22.
97. Saraeva RB, Paskaleva ID, Doncheva E, Eap CB, Ganey VS. Pharmacogenetics of acenocoumarol: CYP2C9, CYP2C19, CYP1A2, CYP3A4, CYP3A5 and ABCB1 gene polymorphisms and dose requirements. *J Clin Pharm Ther*. 2007 Dec;32(6):641-9.
98. Thijssen HH, Verkooijen IW, Frank HL. The possession of the CYP2C9\*3 allele is associated with low dose requirement of acenocoumarol. *Pharmacogenetics*. 2000 Nov;10(8):757-60.
99. Verstuyft C, Morin S, Robert A, Lorient MA, Beaune P, Jaillon P, Becquemont L. Early acenocoumarol overanticoagulation among cytochrome P450 2C9 poor metabolizers. *Pharmacogenetics*. 2001 Nov;11(8):735-7.
100. Tàssies D, Freire C, Pijoan J, Maragall S, Monteagudo J, Ordinas A, Reverter JC. Pharmacogenetics of acenocoumarol: cytochrome P450 CYP2C9 polymorphisms influence dose requirements and stability of anticoagulation. *Haematologica*. 2002 Nov;87(11):1185-91.
101. Cadamuro J, Dieplinger B, Felder T, Kedenko I, Mueller T, Haltmayer M, Patsch W, Oberkofler H. Genetic determinants of acenocoumarol and phenprocoumon maintenance dose requirements. *Eur J Clin Pharmacol*. 2010 Mar;66(3):253-60.
102. Teichert M, Eijgelsheim M, Rivadeneira F, Uitterlinden AG, van Schaik RH, Hofman A, De Smet PA, van Gelder T, Visser LE, Stricker BH. A genome-wide association study of acenocoumarol maintenance dosage. *Hum Mol Genet*. 2009 Oct 1;18(19):3758-68.
103. Verde Z, Santiago C, Valle B, Fernández-Santander A, Bandrés F, Calvo E, Ruiz JR, Lucía A, Gallego FG. Pharmacogenetics of acenocoumarol: CYP2C9 \*2 and VKORC1 c.-1639G>A, 497C>G, 1173C>T, and 3730G>A variants influence drug dose in anticoagulated patients. *Thromb Haemost*. 2009 Mar;101(3):591-3.

104. Wijnen PA, Linssen CF, Haenen GR, Bekers O, Drent M. Variant VKORC1 and CYP2C9 alleles in patients with diffuse alveolar hemorrhage caused by oral anticoagulants. *Mol Diagn Ther*. 2010 Feb 1;14(1):23-30.
105. Markatos CN, Grouzi E, Politou M, Gialeraki A, Merkouri E, Panagou I, Spiliotopoulou I, Travlou A. VKORC1 and CYP2C9 allelic variants influence acenocoumarol dose requirements in Greek patients. *Pharmacogenomics*. 2008 Nov;9(11):1631-8.
106. Thijssen HH, Drittij MJ, Vervoort LM, de Vries-Hanje JC. Altered pharmacokinetics of R- and S-acenocoumarol in a subject heterozygous for CYP2C9\*3. *Clin Pharmacol Ther*. 2001 Sep;70(3):292-8.
107. Thijssen HH, Ritzen B. Acenocoumarol pharmacokinetics in relation to cytochrome P450 2C9 genotype. *Clin Pharmacol Ther*. 2003 Jul;74(1):61-8.
108. Spreafico M, Lodigiani C, van Leeuwen Y, Pizzotti D, Rota LL, Rosendaal F, Mannucci PM, Peyvandi F. Effects of CYP2C9 and VKORC1 on INR variations and dose requirements during initial phase of anticoagulant therapy. *Pharmacogenomics*. 2008 Sep;9(9):1237-50.
109. He M, Korzekwa KR, Jones JP, Rettie AE, Trager WF. Structural forms of phenprocoumon and warfarin that are metabolized at the active site of CYP2C9. *Arch Biochem Biophys*. 1999 1;372(1):16-28.
110. Ufer M, Kammerer B, Kahlich R, Kirchheiner J, Yasar U, Brockmüller J, Rane A. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2C9 causing reduced phenprocoumon (S)-7-hydroxylation in vitro and in vivo. *Xenobiotica*. 2004 Sep;34(9):847-59
111. Kirchheiner J, Ufer M, Walter EC, Kammerer B, Kahlich R, Meisel C, Schwab M, Gleiter CH, Rane A, Roots I, Brockmüller J. Effects of CYP2C9 polymorphisms on the pharmacokinetics of R- and S-phenprocoumon in healthy volunteers. *Pharmacogenetics*. 2004 Jan;14(1):19-26.
112. Schalekamp T, Brassé BP, Roijers JF, van Meegen E, van der Meer FJ, van Wijk EM, Egberts AC, de Boer A. VKORC1 and CYP2C9 genotypes and phenprocoumon anticoagulation status: interaction between both genotypes affects dose requirement. *Clin Pharmacol Ther*. 2007 Feb;81(2):185-93.
113. Werner D, Werner U, Wuerfel A, Grosch A, Lestin HG, Eschenhagen T, Rau T. Pharmacogenetic characteristics of patients with complicated phenprocoumon dosing. *Eur J Clin Pharmacol*. 2009 Aug;65(8):783-8.

114. Hummers-Pradier E, Hess S, Adham IM, Papke T, Pieske B, Kochen MM. Determination of bleeding risk using genetic markers in patients taking phenprocoumon. *Eur J Clin Pharmacol*. 2003 Jul;59(3):213-9.
115. Schalekamp T, Oosterhof M, van Meegen E, van Der Meer FJ, Conemans J, Hermans M, Meijerman I, de Boer A. Effects of cytochrome P450 2C9 polymorphisms on phenprocoumon anticoagulation status. *Clin Pharmacol Ther*. 2004 Nov;76(5):409-17.
116. Cramer JA, Mintzer S, Wheless J, Mattson RH. Adverse effects of antiepileptic drugs: a brief overview of important issues. *Expert Rev Neurother*. 2010 Jun;10(6):885-91.
117. Mintzer S. Metabolic consequences of antiepileptic drugs. *Curr Opin Neurol*. 2010 Apr;23(2):164-9.
118. Klotz U. The role of pharmacogenetics in the metabolism of antiepileptic drugs: pharmacokinetic and therapeutic implications. *Clin Pharmacokinet*. 2007;46(4):271-9.
119. Taylor S, Tudur Smith C, Williamson PR, Marson AG. Phenobarbitone versus phenytoin monotherapy for partial onset seizures and generalized onset tonic-clonic seizures. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001;(4):CD002217.
120. Pustyl'nyak VO, Gulyaeva LF, Lyakhovich VV. Induction of cytochrome P4502B: role of regulatory elements and nuclear receptors. *Biochemistry (Mosc)*. 2007 Jun;72(6):608-17.
121. Yamada H, Ishii Y, Yamamoto M, Oguri K. Induction of the hepatic cytochrome P450 2B subfamily by xenobiotics: research history, evolutionary aspect, relation to tumorigenesis, and mechanism. *Curr Drug Metab*. 2006 May;7(4):397-409.
122. Goto S, Seo T, Murata T, Nakada N, Ueda N, Ishitsu T, Nakagawa K. Population estimation of the effects of cytochrome P450 2C9 and 2C19 polymorphisms on phenobarbital clearance in Japanese. *Ther Drug Monit*. 2007 Feb;29(1):118-21.
123. Graves NM. Pharmacokinetics and interactions of antiepileptic drugs. *Am J Hosp Pharm*. 1993 Dec;50(12 Suppl 5):S23-9; quiz S30-2.
124. Yamanaka H, Nakajima M, Hara Y, Katoh M, Tachibana O, Yamashita J, Yokoi T. Urinary excretion of phenytoin metabolites, 5-(4'-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin and its O-glucuronide in humans and analysis of genetic polymorphisms of UDP-glucuronosyltransferases. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2005 Apr;20(2):135-43.
125. Bajpai M, Roskos LK, Shen DD, Levy RH. Roles of cytochrome P4502C9 and cytochrome P4502C19 in the stereoselective metabolism of phenytoin to its major metabolite. *Drug Metab Dispos*. 1996 Dec;24(12):1401-3.



126. Kidd RS, Straughn AB, Meyer MC, Blaisdell J, Goldstein JA, Dalton JT. Pharmacokinetics of chlorpheniramine, phenytoin, glipizide and nifedipine in an individual homozygous for the CYP2C9\*3 allele. *Pharmacogenetics*. 1999 ;9(1):71-80.
127. Aynacioglu AS, Brockmüller J, Bauer S, Sachse C, Güzelbey P, Ongen Z, Nacak M, Roots I. Frequency of cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. *Br J Clin Pharmacol*. 1999 Sep;48(3):409-15.
128. Warner A, Privitera M, Bates D. Standards of laboratory practice: antiepileptic drug monitoring. National Academy of Clinical Biochemistry. *Clin Chem*. 1998 May;44(5):1085-95.
129. Caraco Y, Muszkat M, Wood AJ. Phenytoin metabolic ratio: a putative marker of CYP2C9 activity in vivo. *Pharmacogenetics*. 2001 Oct;11(7):587-96.
130. van der Weide J, Steijns LS, van Weelden MJ, de Haan K. The effect of genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenytoin dose requirement. *Pharmacogenetics*. 2001 Jun;11(4):287-91.
131. Mamiya K, Ieiri I, Shimamoto J, Yukawa E, Imai J, Ninomiya H, Yamada H, Otsubo K, Higuchi S, Tashiro N. The effects of genetic polymorphisms of CYP2C9 and CYP2C19 on phenytoin metabolism in Japanese adult patients with epilepsy: studies in stereoselective hydroxylation and population pharmacokinetics. *Epilepsia*. 1998 ;39(12):1317-23.
132. Hung CC, Lin CJ, Chen CC, Chang CJ, Liou HH. Dosage recommendation of phenytoin for patients with epilepsy with different CYP2C9/CYP2C19 polymorphisms. *Ther Drug Monit*. 2004 Oct;26(5):534-40.
133. Kesavan R, Narayan SK, Adithan C. Influence of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on phenytoin-induced neurological toxicity in Indian epileptic patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2010 Jul;66(7):689-96.
134. Soga Y, Nishimura F, Ohtsuka Y, Araki H, Iwamoto Y, Naruishi H, Shiomi N, Kobayashi Y, Takashiba S, Shimizu K, Gomita Y, Oka E. CYP2C polymorphisms, phenytoin metabolism and gingival overgrowth in epileptic subjects. *Life Sci*. 2004 Jan 2;74(7):827-34.
135. Lee AY, Kim MJ, Chey WY, Choi J, Kim BG. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C9 in diphenylhydantoin-induced cutaneous adverse drug reactions. *Eur J Clin Pharmacol*. 2004 May;60(3):155-9.
136. Zhang XZ, Li XJ, Zhang HY. Valproic acid as a promising agent to combat Alzheimer's disease. *Brain Res Bull*. 2010 Jan 15;81(1):3-6.

137. Odani A, Hashimoto Y, Otsuki Y, Uwai Y, Hattori H, Furusho K, Inui K. Genetic polymorphism of the CYP2C subfamily and its effect on the pharmacokinetics of phenytoin in Japanese patients with epilepsy. *Clin Pharmacol Ther.* 1997 Sep;62(3):287-92.
138. Allabi AC, Gala JL, Horsmans Y. CYP2C9, CYP2C19, ABCB1 (MDR1) genetic polymorphisms and phenytoin metabolism in a Black Beninese population. *Pharmacogenet Genomics.* 2005 Nov;15(11):779-86.
139. Levy RH, Rettenmeier AW, Anderson GD, Wilensky AJ, Friel PN, Baillie TA, Acheampong A, Tor J, Guyot M, Loiseau P. Effects of polytherapy with phenytoin, carbamazepine, and stiripentol on formation of 4-ene-valproate, a hepatotoxic metabolite of valproic acid. *Clin Pharmacol Ther.* 1990 Sep;48(3):225-35.
140. Gopaul SV, Farrell K, Abbott FS. Identification and characterization of N-acetylcysteine conjugates of valproic acid in humans and animals. *Drug Metab Dispos.* 2000 Jul;28(7):823-32.
141. Jiang D, Bai X, Zhang Q, Lu W, Wang Y, Li L, Müller M. Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genotypes on pharmacokinetic variability of valproic acid in Chinese epileptic patients: nonlinear mixed-effect modeling. *Eur J Clin Pharmacol.* 2009 Dec;65(12):1187-93.
142. Tan L, Yu JT, Sun YP, Ou JR, Song JH, Yu Y. The influence of cytochrome oxidase CYP2A6, CYP2B6, and CYP2C9 polymorphisms on the plasma concentrations of valproic acid in epileptic patients. *Clin Neurol Neurosurg.* 2010 May;112(4):320-3.
143. Mano Y, Usui T, Kamimura H. Predominant contribution of UDP-glucuronosyltransferase 2B7 in the glucuronidation of racemic flurbiprofen in the human liver. *Drug Metab Dispos.* 2007 Jul;35(7):1182-7.
144. Mouelhi M, Beck S, Bock KW. Stereoselective glucuronidation of (R)- and (S)-naproxen by recombinant rat phenol UDP-glucuronosyltransferase (UGT1A1) and its human orthologue. *Biochem Pharmacol.* 1993 Oct 5;46(7):1298-300.
145. Kuehl GE, Lampe JW, Potter JD, Bigler J. Glucuronidation of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: identifying the enzymes responsible in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos.* 2005 Jul;33(7):1027-35.
146. Mano Y, Usui T, Kamimura H. Contribution of UDP-glucuronosyltransferases 1A9 and 2B7 to the glucuronidation of indomethacin in the human liver. *Eur J Clin Pharmacol.* 2007 Mar;63(3):289-96.

147. Mano Y, Usui T, Kamimura H. Identification of human UDP-glucuronosyltransferase responsible for the glucuronidation of niflumic acid in human liver. *Pharm Res.* 2006 Jul;23(7):1502-8.
148. Rendic S. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. *Drug Metab Rev.* 2002 Feb-May;34(1-2):83-448.
149. Zhou SF, Zhou ZW, Yang LP, Cai JP. Substrates, inducers, inhibitors and structure-activity relationships of human Cytochrome P450 2C9 and implications in drug development. *Curr Med Chem.* 2009;16(27):3480-675.
150. Pilotto A, Seripa D, Franceschi M, Scarcelli C, Colaizzo D, Grandone E, Niro V, Andriulli A, Leandro G, Di Mario F, Dallapiccola B. Genetic susceptibility to nonsteroidal anti-inflammatory drug-related gastroduodenal bleeding: role of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Gastroenterology.* 2007 Aug;133(2):465-71.
151. Chakraborti AK, Garg SK, Kumar R, Motiwala HF, Jadhavar PS. Progress in OX-2 inhibitors: a journey so far. *Curr Med Chem.* 2010;17(15):1563-93.
152. Sandberg M, Yasar U, Strömberg P, Höög JO, Eliasson E. Oxidation of celecoxib by polymorphic cytochrome P450 2C9 and alcohol dehydrogenase. *Br J Clin Pharmacol.* 2002 Oct;54(4):423-9.
153. Paulson SK, Hribar JD, Liu NW, Hajdu E, Bible RH Jr, Piergies A, Karim A. Metabolism and excretion of [(14)C]celecoxib in healthy male volunteers. *Drug Metab Dispos.* 2000 Mar;28(3):308-14.
154. Tang C, Shou M, Rushmore TH, Mei Q, Sandhu P, Woolf EJ, Rose MJ, Gelmann A, Greenberg HE, De Lepeleire I, Van Hecken A, De Schepper PJ, Ebel DL, Schwartz JI, Rodrigues AD. In-vitro metabolism of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, by allelic variant forms of human liver microsomal cytochrome P450 2C9: correlation with CYP2C9 genotype and in-vivo pharmacokinetics. *Pharmacogenetics.* 2001 Apr;11(3):223-35.
155. Werner U, Werner D, Pahl A, Mundkowski R, Gillich M, Brune K. Investigation of the pharmacokinetics of celecoxib by liquid chromatography-mass spectrometry. *Bio-med Chromatogr.* 2002 Feb;16(1):56-60.
156. Kirchheiner J, Störmer E, Meisel C, Steinbach N, Roots I, Brockmöller J. Influence of CYP2C9 genetic polymorphisms on pharmacokinetics of celecoxib and its metabolites. *Pharmacogenetics.* 2003 Aug;13(8):473-80.

157. Stempak D, Bukaveckas BL, Linder M, Koren G, Baruchel S. Cytochrome P450 2C9 genotype: impact on celecoxib safety and pharmacokinetics in a pediatric patient. *Clin Pharmacol Ther.* 2005 Sep;78(3):309-10.
158. Lundblad MS, Ohlsson S, Johansson P, Lafolie P, Eliasson E. Accumulation of celecoxib with a 7-fold higher drug exposure in individuals homozygous for CYP2C9\*3. *Clin Pharmacol Ther.* 2006 Mar;79(3):287-8.
159. Shen S, Marchick MR, Davis MR, Doss GA, Pohl LR. Metabolic activation of diclofenac by human cytochrome P450 3A4: role of 5-hydroxydiclofenac. *Chem Res Toxicol.* 1999 Feb;12(2):214-22.
160. Shimamoto J, Ieiri I, Urae A, Kimura M, Irie S, Kubota T, Chiba K, Ishizaki T, Otsubo K, Higuchi S. Lack of differences in diclofenac (a substrate for CYP2C9) pharmacokinetics in healthy volunteers with respect to the single CYP2C9\*3 allele. *Eur J Clin Pharmacol.* 2000 Apr;56(1):65-8.
161. Morin S, Lorient MA, Poirier JM, Tenneze L, Beaune PH, Funck-Brentano C, Jaillon P, Becquemont L. Is diclofenac a valuable CYP2C9 probe in humans? *Eur J Clin Pharmacol.* 2001 Jan-Feb;56(11):793-7.
162. asar U, Eliasson E, Forslund-Bergengren C, Tybring G, Gadd M, Sjöqvist F, Dahl ML. The role of CYP2C9 genotype in the metabolism of diclofenac in vivo and in vitro. *Eur J Clin Pharmacol.* 2001 Dec;57(10):729-35.
163. Aithal GP, Day CP, Leathart JB, Daly AK. Relationship of polymorphism in CYP2C9 to genetic susceptibility to diclofenac-induced hepatitis. *Pharmacogenetics.* 2000 Aug;10(6):511-8.
164. Kirchheiner J, Meineke I, Steinbach N, Meisel C, Roots I, Brockmöller J. Pharmacokinetics of diclofenac and inhibition of cyclooxygenases 1 and 2: no relationship to the CYP2C9 genetic polymorphism in humans. *Br J Clin Pharmacol.* 2003 Jan;55(1):51-61.
165. Dorado P, Berecz R, Norberto MJ, Yasar U, Dahl ML, Llerena A. CYP2C9 genotypes and diclofenac metabolism in Spanish healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol.* 2003 Jul;59(3):221-5.
166. Dorado P, Cavaco I, Cáceres MC, Piedade R, Ribeiro V, Llerena A. Relationship between CYP2C8 genotypes and diclofenac 5-hydroxylation in healthy Spanish volunteers. *Eur J Clin Pharmacol.* 2008 Oct;64(10):967-70.
167. Pierce CA, Voss B. Efficacy and safety of ibuprofen and acetaminophen in children and adults: a meta-analysis and qualitative review. *Ann Pharmacother.* 2010 Mar;44(3):489-506.

168. Chang SY, Li W, Traeger SC, Wang B, Cui D, Zhang H, Wen B, Rodrigues AD. Confirmation that cytochrome P450 2C8 (CYP2C8) plays a minor role in (S)-(+)- and (R)-(-)-ibuprofen hydroxylation in vitro. *Drug Metab Dispos.* 2008 Dec;36(12):2513-22.
169. Kirchheiner J, Meineke I, Freytag G, Meisel C, Roots I, Brockmöller J. Enantiospecific effects of cytochrome P450 2C9 amino acid variants on ibuprofen pharmacokinetics and on the inhibition of cyclooxygenases 1 and 2. *Clin Pharmacol Ther.* 2002 Jul;72(1):62-75.
170. Martínez C, García-Martín E, Blanco G, Gamito FJ, Ladero JM, Agúndez JA. The effect of the cytochrome P450 CYP2C8 polymorphism on the disposition of (R)-ibuprofen enantiomer in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 2005;59(1):62-9.
171. García-Martín E, Martínez C, Tabarés B, Frías J, Agúndez JA. Interindividual variability in ibuprofen pharmacokinetics is related to interaction of cytochrome P450 2C8 and 2C9 amino acid polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther.* 2004 Aug;76(2):119-27.
172. López-Rodríguez R, Novalbos J, Gallego-Sandín S, Román-Martínez M, Torrado J, Gisbert JP, Abad-Santos F. Influence of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms on pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters of racemic and enantiomeric forms of ibuprofen in healthy volunteers. *Pharmacol Res.* 2008 Jul;58(1):77-84.
173. Fendrick AM, Greenberg BP. A review of the benefits and risks of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the management of mild-to-moderate osteoarthritis. *Osteopath Med Prim Care.* 2009 Jan 6;3:1.
174. Kiang CH, Lee C, Kushinsky S. Isolation and identification of 6-desmethylnaproxen sulfate as a new metabolite of naproxen in human plasma. *Drug Metab Dispos.* 1989 Jan-Feb;17(1):43-8.
175. Tracy TS, Marra C, Wrighton SA, Gonzalez FJ, Korzekwa KR. Involvement of multiple cytochrome P450 isoforms in naproxen O-demethylation. *Eur J Clin Pharmacol.* 1997;52(4):293-8.
176. Bae JW, Kim JH, Choi CI, Kim MJ, Kim HJ, Byun SA, Chang YS, Jang CG, Park YS, Lee SY. Effect of CYP2C9\*3 allele on the pharmacokinetics of naproxen in Korean subjects. *Arch Pharm Res.* 2009 Feb;32(2):269-73.
177. Takanashi K, Tainaka H, Kobayashi K, Yasumori T, Hosakawa M, Chiba K. CYP2C9 Ile359 and Leu359 variants: enzyme kinetic study with seven substrates. *Pharmacogenetics.* 2000 Mar;10(2):95-104.

178. Tracy TS, Hutzler JM, Haining RL, Rettie AE, Hummel MA, Dickmann LJ. Polymorphic variants (CYP2C9\*3 and CYP2C9\*5) and the F114L active site mutation of CYP2C9: effect on atypical kinetic metabolism profiles. *Drug Metab Dispos.* 2002 Apr;30(4):385-90.
179. Perini JA, Vianna-Jorge R, Brogliato AR, Suarez-Kurtz G. Influence of CYP2C9 genotypes on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of piroxicam. *Clin Pharmacol Ther.* 2005 Oct;78(4):362-9.
180. Peiró AM, Novalbos J, Zapater P, Moreu R, López-Rodríguez R, Rodríguez V, Abad-Santos F, Horga JF. Pharmacogenetic relevance of the CYP2C9\*3 allele in atenoxicam bioequivalence study performed on Spaniards. *Pharmacol Res.* 2009 Jan;59(1):62-8.
181. Moen MD, Wagstaff AJ. Losartan: a review of its use in stroke risk reduction in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy. *Drugs.* 2005;65(18):2657-74.
182. Stearns RA, Chakravarty PK, Chen R, Chiu SH. Biotransformation of losartan to its active carboxylic acid metabolite in human liver microsomes. Role of cytochrome P4502C and 3A subfamily members. *Drug Metab Dispos.* 1995 Feb;23(2):207-15.
183. Yasar U, Tybring G, Hidestrand M, Oscarson M, Ingelman-Sundberg M, Dahl ML, Eliasson E. Role of CYP2C9 polymorphism in losartan oxidation. *Drug Metab Dispos.* 2001 Jul;29(7):1051-6.
184. Bourrié M, Meunier V, Berger Y, Fabre G. Role of cytochrome P-4502C9 in irbesartan oxidation by human liver microsomes. *Drug Metab Dispos.* 1999 Feb;27(2):288-96.
185. Chando TJ, Everett DW, Kahle AD, Starrett AM, Vachharajani N, Shyu WC, Kripalani KJ, Barbhaiya RH. Biotransformation of irbesartan in man. *Drug Metab Dispos.* 1998 May;26(5):408-17.
186. Schmidt B, Schieffer B. Angiotensin II AT1 receptor antagonists. Clinical implications of active metabolites. *J Med Chem.* 2003 Jun 5;46(12):2261-70.
187. Stangier J, Schmid J, Türck D, Switek H, Verhagen A, Peeters PA, van Marle SP, Tamminga WJ, Sollie FA, Jonkman JH. Absorption, metabolism, and excretion of intravenously and orally administered [<sup>14</sup>C]telmisartan in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol.* 2000 Dec;40(12 Pt 1):1312-22.
188. Schwocho LR, Masonson HN. Pharmacokinetics of CS-866, a new angiotensin II receptor blocker, in healthy subjects. *J Clin Pharmacol.* 2001 May;41(5):515-27.
189. Ripley TL, Chonlahan JS, Germany RE. Candesartan in heart failure. *Clin Interv Aging.* 2006;1(4):357-66.

190. Gleiter CH, Mörike KE. Clinical pharmacokinetics of candesartan. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41(1):7-17.
191. Hanatani T, Fukuda T, Ikeda M, Imaoka S, Hiroi T, Funae Y, Azuma J. CYP2C9\*3 influences the metabolism and the drug-interaction of candesartan in vitro. *Pharmacogenomics J.* 2001;1(4):288-92.
192. Uchida S, Watanabe H, Nishio S, Hashimoto H, Yamazaki K, Hayashi H, Ohashi K. Altered pharmacokinetics and excessive hypotensive effect of candesartan in a patient with the CYP2C91/3 genotype. *Clin Pharmacol Ther.* 2003 Nov;74(5):505-8.
193. Yun CH, Lee HS, Lee H, Rho JK, Jeong HG, Guengerich FP. Oxidation of the angiotensin II receptor antagonist losartan (DuP 753) in human liver microsomes. Role of cytochrome P4503A(4) in formation of the active metabolite EXP3174. *Drug Metab Dispos.* 1995 Feb;23(2):285-9.
194. Sica DA, Gehr TW, Ghosh S. Clinical pharmacokinetics of losartan. *Clin Pharmacokin.* 2005;44(8):797-814.
195. Croom KF, Plosker GL. Irbesartan: a review of its use in hypertension and diabetic nephropathy. *Drugs.* 2008;68(11):1543-69
196. Marino MR, Vachharajani NN. Drug interactions with irbesartan. *Clin Pharmacokin.* 2001;40(8):605-14.
197. Hallberg P, Karlsson J, Kurland L, Lind L, Kahan T, Malmqvist K, Ohman KP, Nyström F, Melhus H. The CYP2C9 genotype predicts the blood pressure response to irbesartan: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens.* 2002 Oct;20(10):2089-93.
198. Hong X, Zhang S, Mao G, Jiang S, Zhang Y, Yu Y, Tang G, Xing H, Xu X. CYP2C9\*3 allelic variant is associated with metabolism of irbesartan in Chinese population. *Eur J Clin Pharmacol.* 2005 Oct;61(9):627-34.
199. Chen G, Jiang S, Mao G, Zhang S, Hong X, Tang G, Li Z, Liu X, Zhang Y, Xing H, Wang B, Yu Y, Xu X. CYP2C9 Ile359Leu polymorphism, plasma irbesartan concentration and acute blood pressure reductions in response to irbesartan treatment in Chinese hypertensive patients. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2006;28(1):19-24.
200. Sachinidis A, Ko Y, Weisser P, Meyer zu Brickwedde MK, Düsing R, Christian R, Wieczorek AJ, Vetter H. EXP3174, a metabolite of losartan (MK 954, DuP 753) is more potent than losartan in blocking the angiotensin II-induced responses in vascular smooth muscle cells. *J Hypertens.* 1993;11(2):155-62.

201. Lo MW, Goldberg MR, McCrea JB, Lu H, Furtek CI, Bjornsson TD. Pharmacokinetics of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, and its active metabolite EXP3174 in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 1995 Dec;58(6):641-9.
202. Nakashima M, Umemura K. The clinical pharmacology of losartan in Japanese subjects and patients. *Blood Press Suppl.* 1996;2:62-6.
203. Kazierad DJ, Martin DE, Blum RA, Tenero DM, Ilson B, Boike SC, Etheredge R, Jorkasky DK. Effect of fluconazole on the pharmacokinetics of eprosartan and losartan in healthy male volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 1997 Oct;62(4):417-25.
204. Williamson KM, Patterson JH, McQueen RH, Adams KF Jr, Pieper JA. Effects of erythromycin or rifampin on losartan pharmacokinetics in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 1998 Mar;63(3):316-23.
205. Yasar U, Forslund-Bergengren C, Tybring G, Dorado P, Llerena A, Sjöqvist F, Eliasson E, Dahl ML. Pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in relation to the CYP2C9 genotype. *Clin Pharmacol Ther.* 2002 Jan;71(1):89-98.
206. Lee CR, Pieper JA, Hinderliter AL, Blaisdell JA, Goldstein JA. Losartan and E3174 pharmacokinetics in cytochrome P450 2C9\*1/\*1, \*1/\*2, and \*1/\*3 individuals. *Pharmacotherapy.* 2003 Jun;23(6):720-5.
207. Sekino K, Kubota T, Okada Y, Yamada Y, Yamamoto K, Horiuchi R, Kimura K, Iga T. Effect of the single CYP2C9\*3 allele on pharmacokinetics and pharmacodynamics of losartan in healthy Japanese subjects. *Eur J Clin Pharmacol.* 2003 Nov;59(8-9):589-92.
208. Fischer TL, Pieper JA, Graff DW, Rodgers JE, Fischer JD, Parnell KJ, Goldstein JA, Greenwood R, Patterson JH. Evaluation of potential losartan-phenytoin drug interactions in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2002 Sep;72(3):238-46.
209. Phillips PJ, Twigg SM. Oral hypoglycaemics - a review of the evidence. *Aust Fam Physician.* 2010 Sep;39(9):651-3.
210. Kokil GR, Rewatkar PV, Verma A, Thareja S, Naik SR. Pharmacology and chemistry of diabetes mellitus and antidiabetic drugs: a critical review. *Curr Med Chem.* 2010;17(35):4405-23.
211. Shon JH, Yoon YR, Kim MJ, Kim KA, Lim YC, Liu KH, Shin DH, Lee CH, Cha IJ, Shin JG. Chlorpropamide 2-hydroxylation is catalysed by CYP2C9 and CYP2C19 in vitro: chlorpropamide disposition is influenced by CYP2C9, but not by CYP2C19 genetic polymorphism. *Br J Clin Pharmacol.* 2005 May;59(5):552-63.
212. Kirchheiner J, Bauer S, Meineke I, Rohde W, Prang V, Meisel C, Roots I, Brockmüller J. Impact of CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms on tolbutamide kine-



- tics and the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Pharmacogenetics*. 2002 Mar;12(2):101-9.
213. Shon JH, Yoon YR, Kim KA, Lim YC, Lee KJ, Park JY, Cha IJ, Flockhart DA, Shin JG. Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genetic polymorphisms on the disposition of and blood glucose lowering response to tolbutamide in humans. *Pharmacogenetics*. 2002 Mar;12(2):111-9.
214. Lee CR, Pieper JA, Hinderliter AL, Blaisdell JA, Goldstein JA. Evaluation of cytochrome P4502C9 metabolic activity with tolbutamide in CYP2C91 heterozygotes. *Clin Pharmacol Ther*. 2002 Nov;72(5):562-71.
215. Shon JH, Yoon YR, Kim KA, Lim YC, Lee KJ, Park JY, Cha IJ, Flockhart DA, Shin JG. Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genetic polymorphisms on the disposition of and blood glucose lowering response to tolbutamide in humans. *Pharmacogenetics*. 2002 Mar;12(2):111-9.
216. Kimber-Trojnar Z, Marciniak B, Leszczyńska-Gorzela B, Trojnar M, Oleszczuk J. Glyburide for the treatment of gestational diabetes mellitus. *Pharmacol Rep*. 2008 May-Jun;60(3):308-18.
217. Rydberg T, Jönsson A, Melander A. Comparison of the kinetics of glyburide and its active metabolites in humans. *J Clin Pharm Ther*. 1995 Oct;20(5):283-95.
218. Zharikova OL, Ravindran S, Nanovskaya TN, Hill RA, Hankins GD, Ahmed MS. Kinetics of glyburide metabolism by hepatic and placental microsomes of human and baboon. *Biochem Pharmacol*. 2007 Jun 15;73(12):2012-9.
219. Naritomi Y, Terashita S, Kagayama A. Identification and relative contributions of human cytochrome P450 isoforms involved in the metabolism of glibenclamide and lansoprazole: evaluation of an approach based on the in vitro substrate disappearance rate. *Xenobiotica*. 2004 May;34(5):415-27.
220. Zhang YF, Chen XY, Guo YJ, Si DY, Zhou H, Zhong DF. [Impact of cytochrome P450 CYP2C9 variant allele CYP2C9 \* 3 on the pharmacokinetics of glibenclamide and lornoxicam in Chinese subjects]. *Yao Xue Xue Bao*. 2005 Sep;40(9):796-9.
221. Niemi M, Cascorbi I, Timm R, Kroemer HK, Neuvonen PJ, Kivistö KT. Glyburide and glimepiride pharmacokinetics in subjects with different CYP2C9 genotypes. *Clin Pharmacol Ther*. 2002 Sep;72(3):326-32.
222. Kirchheiner J, Brockmöller J, Meineke I, Bauer S, Rohde W, Meisel C, Roots I. Impact of CYP2C9 amino acid polymorphisms on glyburide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther*. 2002 Apr;71(4):286-96.

223. Yin OQ, Tomlinson B, Chow MS. CYP2C9, but not CYP2C19, polymorphisms affect the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in Chinese subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2005 Oct;78(4):370-7.
224. Elliot DJ, Suharjono, Lewis BC, Gillam EM, Birkett DJ, Gross AS, Miners JO. Identification of the human cytochromes P450 catalysing the rate-limiting pathways of gliclazide elimination. *Br J Clin Pharmacol.* 2007 Oct;64(4):450-7.
225. Zhang Y, Si D, Chen X, Lin N, Guo Y, Zhou H, Zhong D. Influence of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on pharmacokinetics of gliclazide MR in Chinese subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 2007 Jul;64(1):67-74.
226. Wang R, Chen K, Wen SY, Li J, Wang SQ. Pharmacokinetics of glimepiride and cytochrome P450 2C9 genetic polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther.* 2005 Jul;78(1):90-2.
227. Suzuki K, Yanagawa T, Shibasaki T, Kaniwa N, Hasegawa R, Tohkin M. Effect of CYP2C9 genetic polymorphisms on the efficacy and pharmacokinetics of glimepiride in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006 May;72(2):148-54.
228. Abad S, Moachon L, Blanche P, Bavoux F, Sicard D, Salmon-Céron D. Possible interaction between gliclazide, fluconazole and sulfamethoxazole resulting in severe hypoglycaemia. *Br J Clin Pharmacol.* 2001 Oct;52(4):456-7.
229. Tentolouris N, Voulgari C, Katsilambros N. A review of nateglinide in the management of patients with type 2 diabetes. *Vasc Health Risk Manag.* 2007;3(6):797-807.
230. McLeod JF. Clinical pharmacokinetics of nateglinide: a rapidly-absorbed, short-acting insulinotropic agent. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(2):97-120. [174] Weaver ML, Orwig BA, Rodriguez LC, Graham ED, Chin JA, Shapiro MJ, McLeod JF, Mangold JB. Pharmacokinetics and metabolism of nateglinide in humans. *Drug Metab Dispos.* 2001 Apr;29(4 Pt 1):415-21.
231. Kirchheiner J, Meineke I, Müller G, Bauer S, Rohde W, Meisel C, Roots I, Brockmüller J. Influence of CYP2C9 and CYP2D6 polymorphisms on the pharmacokinetics of nateglinide in genotyped healthy volunteers. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(4):267-78.
232. Scripture CD, Pieper JA. Clinical pharmacokinetics of fluvastatin. *Clin Pharmacokinet.* 2001;40(4):263-81.
233. Fischer V, Johanson L, Heitz F, Tullman R, Graham E, Baldeck JP, Robinson WT. The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor fluvastatin: effect on

- human cytochrome P-450 and implications for metabolic drug interactions. *Drug Metab Dispos.* 1999 Mar;27(3):410-6.
234. Kirchheiner J, Kudlicz D, Meisel C, Bauer S, Meineke I, Roots I, Brockmüller J. Influence of CYP2C9 polymorphisms on the pharmacokinetics and cholesterol-lowering activity of (-)-3S,5R-fluvastatin and (+)-3R,5S-fluvastatin in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2003 Aug;74(2):186-94.
235. Transon C, Leemann T, Vogt N, Dayer P. In vivo inhibition profile of cytochrome P450TB (CYP2C9) by (+/-)-fluvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 1995 ;58(4):412-7.
236. Knauf H, Mutschler E. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of torsemide. *Clin Pharmacokinet.* 1998 Jan;34(1):1-24.
237. Miners JO, Rees DL, Valente L, Veronese ME, Birkett DJ. Human hepatic cytochrome P450 2C9 catalyzes the rate-limiting pathway of torsemide metabolism. *J Pharmacol Exp Ther.* 1995;272(3):1076-81.
238. Vormfelde SV, Engelhardt S, Zirk A, Meineke I, Tuchen F, Kirchheiner J, Brockmüller J. CYP2C9 polymorphisms and the interindividual variability in pharmacokinetics and pharmacodynamics of the loop diuretic drug torsemide. *Clin Pharmacol Ther.* 2004 Dec;76(6):557-66.
239. Vormfelde SV, Schirmer M, Toliat MR, Meineke I, Kirchheiner J, Nürnberg P, Brockmüller J. Genetic variation at the CYP2C locus and its association with torsemide biotransformation. *Pharmacogenomics J.* 2007 Jun;7(3):200-11.
240. Vormfelde SV, Toliat MR, Schirmer M, Meineke I, Nürnberg P, Brockmüller J. The polymorphisms Asn130Asp and Val174Ala in OATP1B1 and the CYP2C9 allele \*3 independently affect torsemide pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther.* 2008 Jun;83(6):815-7.
241. Borst P, Elferink RO. Mammalian ABC transporters in health and disease. *Annu Rev Biochem.* 2002;71:537-92.
242. Franke RM, Gardner ER, Sparreboom A. Pharmacogenetics of drug transporters. *Curr Pharm Des* 2010;16(2):220-30.
243. Dietrich CG, Geier A, Oude Elferink RP. ABC of oral bioavailability: transporters as gatekeepers in the gut. *Gut* 2003;52(12):1788-95.
244. Cascorbi I. P-glycoprotein: tissue distribution, substrates, and functional consequences of genetic variations. *Handb Exp Pharmacol* 2011;(201):261-83.

245. Pascussi JM, Gerbal-Chaloin S, Duret C, Daujat-Chavanieu M, Vilarem MJ, Maurel P. The tangle of nuclear receptors that controls xenobiotic metabolism and transport: crosstalk and consequences. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2008;48:1-32.
246. Schuetz EG, Furuya KN, Schuetz JD. Interindividual variation in expression of P-glycoprotein in normal human liver and secondary hepatic neoplasms. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;275(2):1011-8.
247. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:3473-8.
248. Wang D., Johnson, A. D., Papp, A. C., Kroetz, D. L., & Sadee, W. (2005a). Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability. *Pharmacogenet Genom* 15, 693–704.
249. Kimchi-Sarfaty, C., Gribar, J. J., & Gottesman, M. M.. Functional characterization of coding polymorphisms in the human MDR1 gene using a vaccinia virus expression system. *Mol Pharmacol* 2002;62, 1–6.
250. Chowbay, B., Kumaraswamy, S., Cheung, Y. B., Zhou, Q., & Lee, E. J. (2003). Genetic polymorphisms in MDR1 and CYP3A4 genes in Asians and the influence of MDR1 haplotypes on cyclosporin disposition in heart transplant recipients. *Pharmacogenetics* 13, 89–95.
251. Chowbay, B., Li, H., David, M., Cheung, Y. B., & Lee, E. J. (2005). Metaanalysis of the influence of MDR1 C3435T polymorphism on digoxin pharmacokinetics and MDR1 gene expression. *Br J Clin Pharmacol* 60, 159–171.
252. Johne, A., Kopke, K., Gerloff, T., Mai, I., Rietbrock, S., Meisel, C., et al. (2002). Modulation of steady-state kinetics of digoxin by haplotypes of the P-glycoprotein MDR1 gene. *Clin Pharmacol Ther* 72, 584–594.
253. Verstuyft, C., Schwab, M., Schaeffeler, E., Kerb, R., Brinkmann, U., Jaillon, P., et al. (2003). Digoxin pharmacokinetics and MDR1 genetic polymorphisms. *Eur J Clin Pharmacol* 58, 809–812.
254. Sakaeda T, Nakamura T, Horinouchi M, et al. MDR1 genotype related pharmacokinetics of digoxin after oral administration in healthy Japanese subjects. *Pharm Res* 2001;18(10):1400-1404.

255. Morita, Y., Sakaeda, T., Horinouchi, M., Nakamura, T., Kuroda, K., Miki, I., et al. (2003). MDR1 genotype-related duodenal absorption rate of digoxin in healthy Japanese subjects. *Pharm Res* 20, 552–556.
256. Larsen UL, Hyldahl Olesen L, Guldborg Nyvold C, Eriksen J, Jakobsen P, Østergaard M, Autrup H, Andersen V. Human intestinal P-glycoprotein activity estimated by the model substrate digoxin. *Scand J Clin Lab Invest* 2007;67(2):123-34.
257. Comets E, Verstuyft C, Lavielle M, Jaillon P, Becquemont L, Mentré F. Modelling the influence of MDR1 polymorphism on digoxin pharmacokinetic parameters. *Eur J Clin Pharmacol.* 2007 May;63(5):437-49.
258. Aarnoudse AJ, Dieleman JP, Visser LE, Arp PP, van der Heiden IP, van Schaik RH, Molokhia M, Hofman A, Uitterlinden AG, Stricker BH. Common ATP-binding cassette B1 variants are associated with increased digoxin serum concentration. *Pharmacogenet Genomics* 2008;18(4):299-305.
259. Weiss M, Hung DY, Poenicke K, Roberts MS. Kinetic analysis of saturable hepatic uptake of digoxin and its inhibition by rifampicin. *Eur J Pharm Sci* 2008;34(4-5):345-50.
260. Neuvonen AM, Palo JU, Sajantila A. Post-mortem ABCB1 genotyping reveals an elevated toxicity for female digoxin users. *Int J Legal Med.* 2011 Mar;125(2):265-9.
261. Anglicheau D, Thervet E, Etienne I, Hurault De Ligny B, Le Meur Y, Touchard G, Büchler M, Laurent-Puig P, Tregouet D, Beaune P, Daly A, Legendre C, Marquet P. CYP3A5 and MDR1 genetic polymorphisms and cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther.* 2004 May;75(5):422-33.
262. Foote CJ, Greer W, Kiberd BA, Fraser A, Lawen J, Nashan B, Belitsky P. MDR1 C3435T polymorphisms correlate with cyclosporine levels in de novo renal recipients. *Transplant Proc.* 2006;38(9):2847-9.
263. Hesselink, D. A., van Schaik, R. H., van, d. H. I., van der, W. M., Gregoor, P. J., Lindemans, J., et al. (2003). Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther* 74, 245–254.
264. Kuypers DR, de Jonge H, Naesens M, Lerut E, Verbeke K, Vanrenterghem Y. CYP3A5 and CYP3A4 but not MDR1 single-nucleotide polymorphisms determine long-term tacrolimus disposition and drug-related nephrotoxicity in renal recipients. *Clin Pharmacol Ther.* 2007 Dec;82(6):711-25

265. Sai K, Kaniwa N, Itoda M, Saito Y, Hasegawa R, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kitamura Y, Kamatani N, Ozawa S, Sawada J. Haplotype analysis of ABCB1/MDR1 blocks in a Japanese population reveals genotype-dependent renal clearance of irinotecan *Pharmacogenetics* 2003;13(12):741-57.
266. Solas C, Simon N, Drogoul MP, Quaranta S, Frixon-Marin V, Bourgarel-Rey V, Brunet C, Gastaut JA, Durand A, Lacarelle B, Poizot-Martin I. Minimal effect of MDR1 and CYP3A5 genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of indinavir in HIV-infected patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2007 Sep;64(3):353-62.
267. Curras V, Hocht C, Mangano A, Niselman V, Mariño Hernández E, Cáceres Guido P, Mecikovsky D, Bellusci C, Bologna R, Sen L, Rubio MC, Bramuglia GF. Pharmacokinetic study of the variability of indinavir drug levels when boosted with ritonavir in HIV-infected children. *Pharmacology* 2009;83(1):59-66.
268. Ma Q, Brazeau D, Zingman BS, Reichman RC, Fischl MA, Gripshover BM, Venuto CS, Shish JC, DiFrancesco R, Forrest A, Morse GD. Multidrug resistance 1 polymorphisms and trough concentrations of atazanavir and lopinavir in patients with HIV. *Pharmacogenomics.* 2007;8(3):227-35.
269. Estrela Rde C, Ribeiro FS, Barroso PF, Tuyama M, Gregório SP, Dias-Neto E, Struchiner CJ, Suarez-Kurtz G. ABCB1 polymorphisms and the concentrations of lopinavir and ritonavir in blood, semen and saliva of HIV-infected men under antiretroviral therapy. *Pharmacogenomics.* 2009 Feb;10(2):311-8.
270. Sansone-Parsons A, Krishna G, Simon J, Soni P, Kantesaria B, Herron J, Stoltz R. Effects of age, gender, and race/ethnicity on the pharmacokinetics of posaconazole in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2007 ;51(2):495-502.
271. Weiss J, Ten Hoevel MM, Burhenne J, Walter-Sack I, Hoffmann MM, Rengelshausen J, Haefeli WE, Mikus G. CYP2C19 genotype is a major factor contributing to the highly variable pharmacokinetics of voriconazole. *J Clin Pharmacol.* 2009;49(2):196-204.
272. Putnam WS, Woo JM, Huang Y, Benet LZ. Effect of the MDR1 C3435T variant and P-glycoprotein induction on dicloxacillin pharmacokinetics. *J Clin Pharmacol.* 2005 Apr;45(4):411-21.
273. Yin OQ, Tomlinson B, Chow MS. Effect of multidrug resistance gene-1 (ABCB1) polymorphisms on the single-dose pharmacokinetics of cloxacillin in healthy adult Chinese men. *Clin Ther* 2009;31(5):999-1006.

274. Kerb R, Aynacioglu AS, Brockmüller J, Schlagenhauer R, Bauer S, Szekeres T, Hamwi A, Fritzer-Szekeres M, Baumgartner C, Ongen HZ, Güzelbey P, Roots I, Brinkmann U. The predictive value of MDR1, CYP2C9, and CYP2C19 polymorphisms for phenytoin plasma levels. *Pharmacogenomics J.* 2001;1(3):204-10.
275. Ebid AH, Ahmed MM, Mohammed SA. Therapeutic drug monitoring and clinical outcomes in epileptic Egyptian patients: a gene polymorphism perspective study. *Ther Drug Monit* 2007;29(3):305-12.
276. Seo T, Ishitsu T, Ueda N, Nakada N, Yurube K, Ueda K, Nakagawa K. ABCB1 polymorphisms influence the response to antiepileptic drugs in Japanese epilepsy patients. *Pharmacogenomics* 2006;7(4):551-61.
277. Basic S, Hajnsek S, Božina N, Filipic I, Sporis D, Mislov D, Posavec A. The influence of C3435T polymorphism of ABCB1 gene on penetration of phenobarbital across the blood-brain barrier in patients with generalized epilepsy. *Seizure.* 2008;17(6):524-30.
278. Jovanović N, Božina N, Lovrić M, Medved V, Jakovljević M, Peleš AM. The role of CYP2D6 and ABCB1 pharmacogenetics in drug-naïve patients with first-episode schizophrenia treated with risperidone. *Eur J Clin Pharmacol.* 2010 Nov;66(11):1109-17.
279. Gunes A, Spina E, Dahl ML, Scordo MG. ABCB1 polymorphisms influence steady-state plasma levels of 9-hydroxyrisperidone and risperidone active moiety. *Ther Drug Monit* 2008;30(5):628-33.
280. Jaquenoud Sirot E, Knezevic B, Morena GP, Harenberg S, Oneda B, Crettol S, Ansermot N, Baumann P, Eap CB. ABCB1 and cytochrome P450 polymorphisms: clinical pharmacogenetics of clozapine. *J Clin Psychopharmacol.* 2009;29(4):319-26.
281. Weiss J, Dorman S-M, Martin-Facklam M, et al. Inhibition of P-glycoprotein by newer antidepressants. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;305(1):197-204.
282. Weiss J, Kerpen CJ, Lindenmaier H, Dorman SM, Haefeli WE. Interaction of antiepileptic drugs with human P-glycoprotein in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 2003a;307:262-7.
283. Kurata Y, Ieiri I, Kimura M et al. Role of human MDR1 gene polymorphism in bioavailability and interaction of digoxin, a substrate of P-glycoprotein. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72:209-29.
284. Haenisch S, Zimmermann U, Dazert E, Wruck CJ, Dazert P, Siegmund W, Kroemer HK, Warzok RW, Cascorbi I. Influence of polymorphisms of ABCB1 and ABCC2 on

- mRNA and protein expression in normal and cancerous kidney cortex. *Pharmacogenomics J* 2007 ;7(1):56-65.
285. Lagas JS, van Waterschoot RA, Sparidans RW, Wagenaar E, Beijnen JH, Schinkel AH. Breast cancer resistance protein and P-glycoprotein limit sorafenib brain accumulation. *Mol Cancer Ther*. 2010 Feb;9(2):319-26.
286. Zwisler ST, Enggaard TP, Noehr-Jensen L, Mikkelsen S, Verstuyft C, Becquemont L, Sindrup SH, Brosen K. The antinociceptive effect and adverse drug reactions of oxycodone in human experimental pain in relation to genetic variations in the OPRM1 and ABCB1 genes. *Fundam Clin Pharmacol*. 2010;24(4):517-24.
287. Toriello M, Meccariello P, Mazzaccara C, Di Fiore R, Esposito C, Sacchetti L. Comparison of the TaqMan and LightCycler systems in pharmacogenetic testing: evaluation of CYP2C9\*2/\*3 polymorphisms. *Clin Chem Lab Med* 2006;44(3):285-7.
288. Arjomand-Nahad F, Diefenbach K, Landt O et al. Genotyping of the triallelic variant G2677T/A in MDR1 using LightCycler with locked-nucleic-acid-modified hybridization probes. *Analytical Biochemistry* 2004; 334;201-3.
289. Oselin K, Gerloff T, Mrozikiewicz PM et al. MDR1 polymorphisms G2677T in exon 21 and C3435T in exon 26 fail to affect rhodamine 123 efflux in peripheral bloodlymphocytes. *Fundam Clin Pharmacol*. 2003;17:463-9.
290. von Ahsen N, Richter M, Grupp C et al. No influence of the MDR-1 C3435T polymorphism or a CYP3A4 promoter polymorphism (CYP3A4-V allele) on dose-adjusted cyclosporin A trough concentrations or rejection incidence in stable renal transplant recipients. *Clin Chem*. 2001;47:1048-52.
291. He SM, Zhou ZW, Li XT, Zhou SF. Clinical drugs undergoing polymorphic metabolism by human cytochrome P450 2C9 and the implication in drug development. *Curr Med Chem*. 2011;18(5):667-713.
292. Božina N, Granić P, Lalić Z, Tramišak I, Lovrić M, Stavljenić-Rukavina A. Genetic Polymorphisms of Cytochromes P450: CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 in Croatian Population. *Croat Med J* 2003;44(4): 425-428.
293. Holstein A, Plaschke A, Ptak M, Egberts EH, El-Din J, Brockmöller J, Kirchheiner J. Association between CYP2C9 slow metabolizer genotypes and severe hypoglycaemia on medication with sulphonylurea hypoglycaemic agents. *Br J Clin Pharmacol* 2005 ;60(1):103-6.
294. Gibbs JP, Hyland R, Youdim K. Minimizing polymorphic metabolism in drug discovery: evaluation of the utility of in vitro methods for predicting pharmacokinetic



consequences associated with CYP2D6 metabolism. *Drug Metab Dispos* 2006; 34(9):1516-22.

295. De Oliveira Almeida VC, De Souza Ferreira AC, Ribeiro DD, Gomes Borges KB, Salles Moura Fernandes AP, Brunialti Godard AL. Association of the C3435T polymorphism of the MDR1 gene and therapeutic doses of warfarin in thrombophilic patients. *J Thromb Haemost*. 2011;9(10):2120-2.

# 11. Životopis

---

Viola Macolić Šarinić rođena je 26. veljače 1966. godine u Stuttgartu, Njemačka. Osnovnu školu i Srednjoškolsko gimnazijsko obrazovanje završila je u Rabu i u Rijeci. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala je 1984., a diplomirala 1990. godine te radi kao liječnik do travnja 1991. g. u Domu zdravlja Rab. Od 1991. do 1996. g. na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu radi kao Znanstveni novak. 1992. godine upisuje Postdiplomski studij kliničke farmakologije i terapije te 1998. godine stiče zvanje magistre znanosti. Od 1996. do 2000. g. specijalizant je u Kliničkom bolničkom centru Zagreb, gdje 17. studenoga 2000. polaže Specijalistički ispit iz kliničke farmakologije i toksikologije.

Od 18. studenoga 2000. do 15. svibnja 2005. radi u Kliničkom bolničkom centru Zagreb, Zavodu za kliničku farmakologiju na poslovima: Klinička ispitivanja (Faza I, studije bioekvivalencije), farmakovigilancija - praćenje nuspojava lijekova (Nacionalni centar), Farmakoeconomika, istraživanje u antimikrobnoj terapiji, informacije o lijekovima (Bilten o lijekovima), rad na odjelu i ambulanti s pacijentima te rad u hitnoj internističkoj ambulanti.

Od 16. svibnja 2005. - 30. studenoga 2011. radi kao Voditeljica odsjeka za farmakovigilanciju, potrošnju lijekova i racionalnu farmakoterapiju u Agenciji za lijekove i medicinske proizvode (HALMED).

Područje rada: Farmakovigilancija, potrošnja lijekova, racionalna farmakoterapija, klinička ocjena dokumentacije, istraživanja na području farmakogenomike u farmakovigilanciji.

Osnovne aktivnosti i odgovornosti: Farmakovigilancija, praćenje potrošnje lijekova na nivou Republike Hrvatske, aktivnosti iz područja racionalne farmakoterapije u vidu edukacija i informiranja zdravstvenih radnika i javnosti, klinička ocjena dokumentacije; Regulatorni poslovi. Ocjena RMP-a i PSUR-ova; klinički savjeti; održavanje seminara i radionica u farmakovigilanciji, farmakogenetika u farmakovigilancijskoj praksi; sudjelovanje u izradi prijedloga teksta zakonskih akata i podataka iz domene rada Agencije.

Predstavnica je HALMED-a u međunarodnim tijelima: delegat Republike Hrvatske pri Vijeću Europe u *Committee of Experts on the Classification of Medicines as regards their Supply (CD-P-PH/PHO)* od 2008. godine; a od 2010. godine predsjednica navedenog odbora (Vijeće Europe, EDQM); delegat za područje farmakovigilancije pri Europskoj agenciji za lijekove (EMA) od 2006. Godine (EudraVigilance, Pharmacovigilance Working Party itd.).

Aktivno je sudjelovala u šestomjesečnom *Twinning Light* projektu IPA/2007/IB/SO/01TL "Jačanje stručnog kapaciteta u implementaciji europskog zakonodavstva u Agenciji za lijekove i medicinske proizvode" financiranog od Europske komisije (2010.-2011.) na području ocjene kliničke dokumentacije i farmakovigilancije.

Održala više od 50 pozvanih predavanja u inozemstvu iz područja farmakovigilancije i farmakoekonomike i kliničke farmakologije. Organizator je i predavač na više od 80 radionica za zdravstvene radnike na području farmakovigilancije, kao i godišnjih konferencija o farmakovigilanciji za nositelje odobrenja u Republici Hrvatskoj.

Od 1. prosinca 2011. ravnateljica je Agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED).

Tajnica je Hrvatskog društva za kliničku farmakologiju i terapiju (HDKFiT), član European Association of Clinical Pharmacology and Therapeutics (EACPT), član Hrvatskog društva toksikologa, član International Society of Pharmacoeconomics and Outcome Research (ISPOR), član Hrvatskog farmaceutskog društva, član Hrvatskog farmakološkog društva, član International Society of Pharmacovigilance (ISOP), član osnivačkog odbora Hrvatskog društva za farmakoekonomiku i istraživanje ishoda - ISPOR Hrvatska, Predsjednica ISPOR Hrvatska.

## 12. Bibliografija

---

### Znanstveni i stručni radovi

1. Mirosevic N, **Macolic Sarinic V**, Mucalo I, Krnic D, Bozina N, Tomic S. Adverse drug reactions caused by drug-drug interactions reported to Croatian Agency for Medicinal products and Medical devices: a retrospective observational study. *Croat Med J*. 2011; 52:604-14
2. Erdeljić V, Francetić I., Makar-Aušperger K, Likić R, **Macolić Šarinić V**: Pain relief in Medical Patients: Does Clinical Judgement and Prescribing Knowledge Suffice? *Coll Antropol*. 35(2011)2:363-368
3. Mirošević N, Božina N, **Macolić Šarinić V**, Tomić S. Nuspojave inhibitora 3-hidroksi-3-metil-glutaril koenzim A reduktaze (statini) prijavljene Agenciji za lijekove i medicinske proizvode. *Liječ Vjes* 2010; 132 (9):272-276
4. Mirošević Skvrce N, Arapović S, Krnić D, **Macolić Šarinić V**, Žeželić S, Bagatin K, Leventić J, Tomić S. Adverse drug reactions of psychopharmacs. *Psichiat Danub* 2010; 22 (3): 236-240
5. Tomić S, Filipović Sučić A, Plazonić A, Truban Žulj R, **Macolić Šarinić V**, Čudina B, Ilić Martinac A. Regulating medicines in Croatia: Five-year Experinace of Agency for medicinal products and medical Devices. *Croat Med J* 2010;51:104-12
6. Kaić B, Gjenero-Margan I, Brzović M, Iakoseljac D, Aleraj B, Nemeth-Blažić T, Kolarić B, **Macolić-Šarinić V**, Šimunović A, Pavlić J. Vaccine regulations in Croatia. *Coll Antropol* 2007; 31 (supl 2): 117-2
7. Erdeljić V, Francetić I, **Macolic Sarinic V**, Bilusic M, Makar Ausperger K, Huic M, Mercep I. Use of gastro protective agents in recommended doses in hospitalized patients receiving NSAIDs: a drug utilization study. *Pharm World Sci*. 2006Oct; 28(5):318-25.
8. Aušperger K, Erdeljić V, S. Mimica, I. Baotić, P. Šimić, **Macolic-Sarinic V**. Inadequate use of preventive strategies in patients receiving NSAIDs. *Clin Drug Invest* 2005; 25:266-270.
9. Erdeljić V, Francetić I, **Macolić-Šarinić V**, Bilušić M, Huić M, Mercep I, Makar-Aušperger K. Procjena opravdanosti potrošnje antibiotika u Klinici za unutrašnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb. *Acta Med Croatica* 2004; 58:293-299.

10. Erdeljic V, Francetic I, **Macolic Sarinic V**, Bilusic M, Huic M, Mercep I, Makar-Ausperger K. Evaluation of justification for antibiotic use at the Internal Medicine Clinic of the Clinical Hospital in Zagreb. *Acta Med Croatica*. 2004; 58(4):293-9.
11. **Macolić Šarinić V**. *Farmakoekonomika.Pharmaca* 2003; 41 (3-4): 143-153.
12. Huić M, **Macolić-Šarinić V**, Vrhovac B i sur. Hospital admission due to adverse drug reaction, *Period.biol.* 2001;7(suppl 1):40.
13. Huic M, Francetic I, Bakran I, **Macolic-Sarinic V**, Bilusic M. Acquired coagulopathy due to anticoagulant rodenticide poisoning. *Croat Med J*. 2002; 43(5):615-7.
14. Huic M, Vrhovac B, **Macolic-Sarinic V**, Francetic I, Bakran I, Giljanovic S. How safe are bioequivalence studies in healthy volunteers? *Therapie*. 1996 Jul -Aug; 51(4):410-3.
15. Vrhovac B, Sarapa N, Bakran I, Huic M, **Macolic-Sarinic V**, Francetic I, Wolf-Coporda A, Plavsic F. Pharmacokinetic changes in patients with oedema. *Clin Pharmacokinet*. 1995;28(5):405-18.
16. Plavsic F, Wolf-Coporda A, Bilusic M, Lovric Z, **Macolic V**, Puretic Z, Bubic-Filipi L, Vrhovac B. Bioequivalence of two oral cyclosporine preparations. *Arzneimittelforschung*. 1995;45(8):914-7.
17. Huić M, **Macolić V**, Vrhovac B, Francetić I, Bakran I, Giljanović S: Adverse drug reactions resulting in hospital admission. *Int J Clin Pharmacol. Ther*. 1994: 32:675-682.
18. **Macolic V**, Vrhovac B. Pharmacokinetics and interactions of digoxin, theophylline and furosemide in diseases with edema. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol*. 1993; 31(1):6-11.
19. **Macolić-Šarinić V**, Mimica S, Marušić S, Francetić I, Vrhovac B, Bilušić M, Ostrički B. Evaluation of single-blind exposition tests on drug hypersensitivity. *Period.biol.* 2001;7(suppl 1):142. Abstrac No. 575
20. Francetić I, Bilušić M, Mercep I, **Macolić-Šarinić V**, Huić M, Makar-Aušperger Mimica S, Marušić S, Vrhovac B. Use of antimicrobials in a clinical hospital centre. *Period.biol.* 2001;7(suppl 1):128. Abstract No. 513

#### **Apstrakti - poster i oralne prezentacije**

21. **Macolić Šarinić V**, Mirošević-Skvrce N, Božina N., Marušić S. Tomić S. Impaired function of CYP2C9 metabolic enzyme and OATP1B1 transporter as predisposition for HMGCoA reductase inhibitors included rhabdomyolysis: case report. *BCPT 2010* (7, suppl. s1): 430.

22. Mirošević-Skvrce N, Zibar I, Božina N., **Macolić Šarinić V.**, Tomić S. SLCO1B1 and CYP2C9 genetic variants could be associated with fluvastatin induced side effects in solid organ allotransplant recipients case series. BCPT 2010 (7, suppl. s1):585.
23. **Macolić Šarinić V.**, Mirošević N, Krnić D, Mucalo I, Tomić S. Knowledge About reporting System of ADRs and Reasons for their Underreporting in Croatia. Drug Saf 2009; 32 (10):936
24. **Macolic Sarinic V.**, Zezelic S, Draganic P, Tomic S. Overall statin consumption in Croatia in the period from 2004 till 2007; Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology (BCPT) 2009; 105 (s1):TP47
25. Arapovic S, Krnic D, **Macolic Sarinic V.**, Mirosevic N, Banovac M, Tomic S. Churg-Strauss syndrome related to therapy with montelukast - case report; Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology (BCPT) 2009; 105 (s1):TP18
26. Mirošević N, Božina N, **Macolić Šarinić V.**, Tomić S. Nuspojave inhibitora 3-hidroksi-3-metil-glutaril koenzim A reduktaze (statini) prijavljene Agenciji za lijekove i medicinske proizvode; Liječ Vjesn 2009; 131 (supl 2): 63-4
27. Erdeljić V, Francetić I, Makar Aušperger K, Merćep I, **Macolić Šarinić V.**, Juričić D. Is atopy or drug allergy an indication for allergy testing to intravenous anesthetics and muscle relaxants. Europ J Derm 2008; 18:273. 3rd International Drug Hypersensitivity Meeting 11-13 April 2008, Paris
28. **Macolic Sarinic V.**, Mirosevic N, Lovrek M, Krnic D, Jankovic I, Tomic S. Evidence of clinically significant cyclosporine - fluvastatine interaction. BCPT 2007; 101 (Supl. 1):115
29. **Macolić Šarinić V.**, Mirošević N, Lovrek M, Krnić D, Janković I, Tomić S. Evidence of clinically significant cyclosporine - fluvastatin interaction. BCPT 2007; 101 (suppl.1) : 115 8th Congress EACPT 29 August 1 September 2007, Amsterdam

#### **Tekstovi za udžbenike**

30. **Macolić Šarinić V.** Nuspojave lijekova i medicinskih proizvoda u Farmakoterpijski priručnik 6; urednici: Francetić I., Reiner Ž., Medicinska naklada Zagreb 2010.
31. **Macolić Šarinić V.** Nuspojave lijekova i interakcije u Interna medicina IV izdanje; urednik Vrhovac B. Naklada Ljevak, Zagreb 2008., str 207.-12.
32. **Macolić Šarinić V.**, Vitezić D. Lijekovi u trudnoći i dojenju u Interna medicina IV izdanje; urednik Vrhovac B. Naklada Ljevak, Zagreb 2008., str 2012.-15.

33. Vitezić D, **Macolić Šarinić V**. Farmakoekonomika u Interna medicina IV izdanje; urednik Vrhovac B. Naklada Ljevak, Zagreb 2008., str 2024.-27.
34. **Macolić Šarinić V**, Vitezić D.: Farmakoekonomika u Osnove kliničke farmakologije; urednici: Francetić I. i Vitezić D., Medicinska naklada Zagreb 2007., str. 85.-108.
35. **Macolić Šarinić V**, Huić M.: Nuspojave lijekova u Farmakoterpijski priručnik 5; urednici: Vrhovac B. Reiner Ž., Medicinska naklada Zagreb 2007., str. 13.-17.
36. **Macolić Šarinić V.**: Farmakoekonomika u Farmakoterapijski priručnik 4; urednici: Vrhovac B., Reiner Ž., Francetić I. Medicinska naklada, Zagreb 2003., str. 4.-8.
37. **Macolić Šarinić V.**: Primjena lijekova u starijoj dobi u Interna medicina; urednici: Vrhovac B i sur. Naklada Ljevak, Zagreb 2003., str. 270.-272.
38. **Macolić Šarinić V.**: Automedikacija u Interna medicina; urednici: Vrhovac B i sur. Naklada Ljevak, Zagreb 2003., str. 273.

# 13. Prilozi

---

## Suglasnost

za sudjelovanje odraslog ispitanika u istraživanju

### «Nuspojave lijekova supstrata metaboličkog enzima citokroma P450 CYP2C9 i transportnog proteina Pgp »

1. Potvrđujem da sam dana \_\_\_\_\_ (*upisati dan/mjesec/godinu*) u \_\_\_\_\_ (*upisati mjesto*) pročitao/pročitala Obavijest za ispitanika za gore navedeno znanstveno istraživanje te sam imao/imala priliku postavljati pitanja.
2. Razumijem da je moje sudjelovanje dragovoljno i da se iz sudjelovanja u istraživanju mogu povući u bilo koje vrijeme, bez navođenja razloga i bez ikakvih posljedica za moje zdravstveno stanje ili pravni status.
3. Razumijem da mojoj medicinskoj dokumentaciji pristup imaju samo odgovorne osobe, to jest voditelj istraživanja i njegovi suradnici te članovi Etičkog povjerenstva ustanove u kojoj se istraživanje obavlja i Etičkog povjerenstva koje je odobrilo ovo znanstveno istraživanje. Tim osobama dajem dopuštenje za pristup mojoj medicinskoj dokumentaciji.
4. Pristajem da moj obiteljski liječnik (odnosno član obitelji) bude upoznat s mojim sudjelovanjem u navedenom znanstvenom istraživanju.
5. Želim i pristajem sudjelovati u navedenom znanstvenom istraživanju.

Ime i prezime ispitanika: \_\_\_\_\_  
(upisati štampanim slovima)

Vlastoručni potpis: \_\_\_\_\_  
(potpisati)

Mjesto i datum: \_\_\_\_\_  
(upisati)

Ime i prezime osobe koja je vodila postupak Obavijesti za ispitanika i Suglasnosti za sudjelovanje:

\_\_\_\_\_  
(upisati štampanim slovima)

Ime i prezime voditelja projekta: **Viola Macolić Šarinić**

Vlastoručni potpis: \_\_\_\_\_  
(potpisati)

Mjesto i datum: \_\_\_\_\_  
(upisati)