

Farmakogenetika tramadola i individualizacija terapije

Miljak, Karolina

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:785681>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-29**



Repository / Repozitorij:

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



Karolina Miljak

**Farmakogenetika tramadola i individualizacija
terapije**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Farmakogenetika Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u suradnji s Kliničkim zavodom za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod stručnim vodstvom prof.dr.sc. Karmele Barišić i suvoditeljstvom prof.dr.sc. Nade Božina.

Zahvala:

Srdačno zahvaljujem svojim mentoricama prof. dr. sc. Nadi Božina i prof.dr.sc. Karmeli Barišić na strpljenju, potpori i stručnom vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.

Veliko hvala mojim prijateljima iz grupa „Do Re i Mi svi“ i „V6“ bez kojih bi sveučilišni dani bili čista dosada isti a svaka sramotna priča ostala nezapamćena.

Posebnu zahvalnost iskazujem svojoj mami na svoj ljubavi, razumijevanju i potpori tijekom studija.

I kao šećer (dijabetes) na kraju, velike zasluge idu Borisu, što je uz mene u svakoj mojoj ludoj ideji, teškim situacijama i za kojeg odustajanje nije opcija.

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. Uvod..... | 1 |
| 1.1. Opioidi..... | 1 |
| 1.2. Tramadol..... | 3 |
| 1.2.1. Frmakokinetika tramadola..... | 3 |
| 1.2.2. Farmakodinamika tramadola..... | 5 |
| 1.2.3. Utjecaj polimorfizma CYP2D6 na metabolizam tramadola..... | 4 |
| 1.3. Farmakogenetika..... | 7 |
| 2. Obrazloženje teme..... | 9 |
| 3. Materijali i metode..... | 10 |
| 4. Rezultati i rasprava..... | 11 |
| 4.1. Citokrom P450..... | 11 |
| 4.1.1. CYP2D6..... | 15 |
| 4.1.2. CYP3A4..... | 17 |
| 4.1.3. CYP2C19..... | 19 |
| 4.2. UGT2B7..... | 19 |
| 4.3. P-glikoprotein..... | 20 |
| 4.4. OPRM1..... | 22 |
| 4.5. NET..... | 23 |
| 4.6. SERT..... | 24 |
| 4.7. Serotoninski sindrom i interakcije lijekova..... | 26 |
| 4.8. Farmakogenetička analiza u klinici..... | 32 |
| 4.8.1. Escitalopram..... | 33 |
| 4.8.2. Venlafaksin..... | 37 |
| 4.8.3. Paroksetin..... | 40 |
| 5. Zaključak..... | 44 |
| 6. Literatura..... | 45 |
| 7. Sažetak/Summary..... | 55 |

1. UVOD

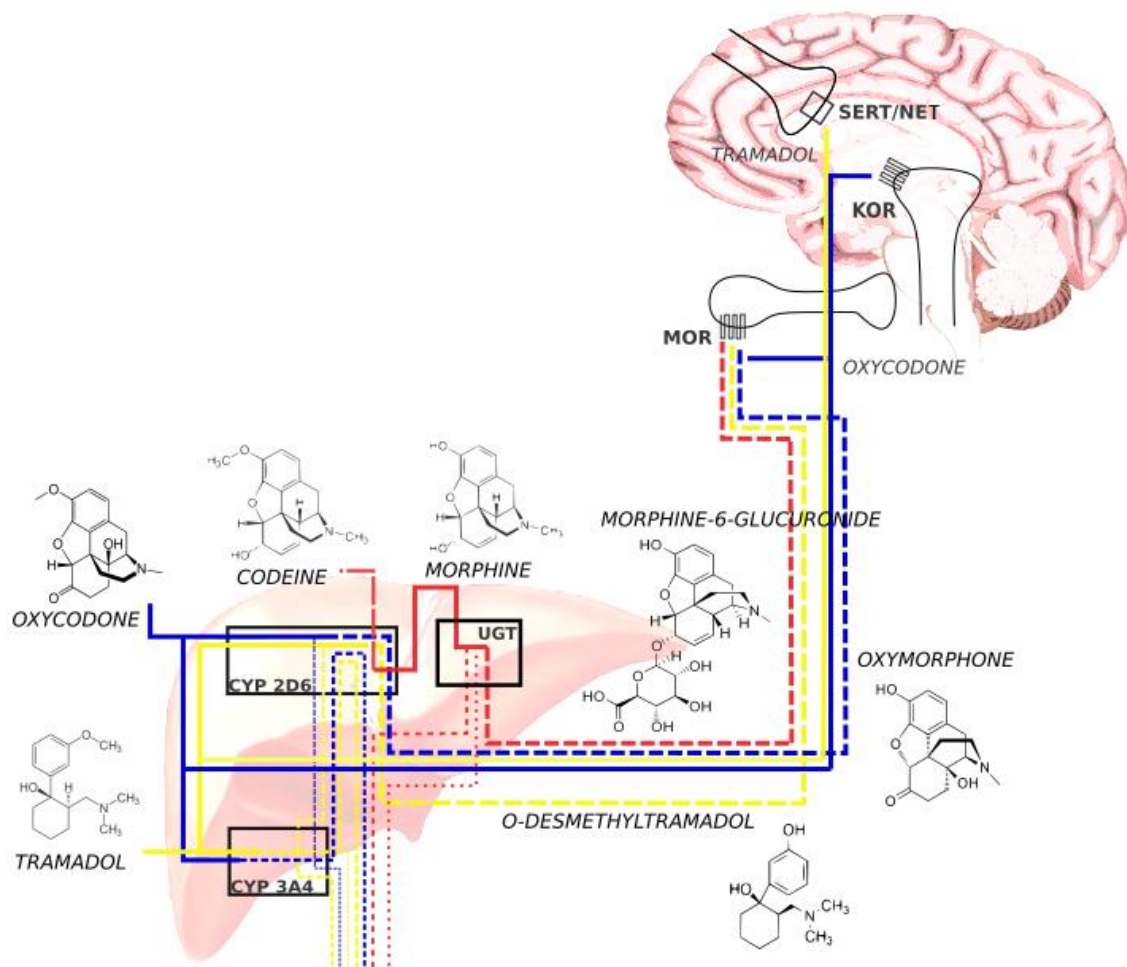
1.1. Opioidi

Opioidni analgetici najčešći su lijekovi u kliničkom zbrinjavanju akutne i kronične boli. Zbog agonizma μ (μ) opioidnih receptora, glavnih opioidnih receptora analgetskog djelovanja, neophodni su u terapiji post-operativnih pacijenata i pacijenata na antitumorskoj terapiji. Potreba da se njihovo korištenje učini što učinkovitijim i sigurnijim vodila je k rasvjetljavanju metaboličkih putova koje prolaze.

Morfinu, zlatnom standardu ove skupine lijekova, prvome je opisana sudbina u organizmu kroz faze metabolizma I i II. Prva je predvođena reakcijama modifikacije molekule (oksidacije, hidrosilacije, metilacije, deaminacije, demetilacije, sulfoksidacije i dehalogenacije) enzimima citokroma P450 (CYP), ponajviše CYP3A4 i CYP2D6, a druga podrazumijeva reakcije konjugiranja s hidrofilnim molekulama (glukuronska kiselina, sulfati, glicin, glutation) gdje su nam od interesa one katalizirane uridin-difosfat-glukuronozil-transferazom (UGT). Iako je svrha ovih enzima učiniti ksenobiotik pogodnim za izlučivanje iz tijela smanjivanjem bioraspoloživosti (time često i djelovanja) i povećavanjem hidrofilnosti, to nije uvijek i pravilo, stoga može doći do pojave metabolita značajne bioraspoloživosti i aktiviteta. Primjer je sam morfin koji nakon glukuronidacije uz inaktivni morfin-3-glukuronid prelazi i u aktivni metabolit morfin-6-glukuronid, zaslužan za dio djelovanja. Također valja spomenuti da je dotični ujedno i aktivni metabolit kodeina, antitustika široke upotrebe. Logično je zaključiti kako konačna analgezija uvelike ovisi o količini dostupnih enzima pretvorbe, opioidnih receptora na koje će se vezati te enzima koji svoj doprinos daju drugim molekulskim mehanizmima.

Kako postoje očite fenotipske razlike između pojedinaca (boja kose, očiju, visina, spola, dob, itd.) unutar jedne rase i između rasa, valja spomenuti i one oku nevidljive a s velikim utjecajem na ljudski organizam i zdravlje. Izostanak odgovarajućeg djelovanja ili pak intoksikacija obilježena različitim nuspojavama vodili su do istraživanja varijabilnosti enzima na molekularnoj razini i širenja farmakogenetičkih spoznaja iznimno važnih za kliničku primjenu opioidnih lijekova. Tako su primjerice otkriveni polimorfizmi CYP2D6 koji mogu biti odgovorni za pojačanu analgeziju zbog rapidnog generiranja veće količine morfina iz kodeina ili hipoanalgeziju zbog limitirane mogućnosti pretvorbe kodeina u morfin. Ovisno o alelnim varijantama gena CYP2D6 pacijenti navedenih primjera nazivaju se ultra brzim

metabolizatorima i sporim metabolizatorima a postoje još i kategorije srednjeg i ekstenzivnog metabolizatora.



Slika: Sažeti prikaz metaboličkih puteva i ciljnog mjesta djelovanja nekih najčešće korištenih opioidnih lijekova (morfin, oksikodon, kodein, tramadol te njihovi aktivni metaboliti: morfin-6-glukuronid, oksimorfon i O-desmetiltramadol)

Sljedeća važna varijabla pri terapiji opioidnim lijekovima upravo je polifarmacija. Poznato je da se u klinici ovi lijekovi koriste u različitim kombinacijama pogotovo kod kroničnih bolesnika, stoga je oprez u propisivanju i doziranju neophodan. Na primjer, prijavljeni su slučajevi pojave tardivne distonije i diskinezije (odgođene, nekontrolirane mišićne kontrakcije koje često mijenjaju držanje čitavog ili jednog dijela tijela te poremećaji kretanja) u pacijenata na terapiji oksikonom i escitalopramom (Cornett i sur., 2017) te tahikardije, tahipneje i promjene mentalnog statusa pri kroničnoj primjeni tramadola i escitaloprama (Hoffelt i sur., 2016).

Tramadol kao atipični opioidni lijek često je propisivan u terapiji umjerene do snažne boli, čije farmakokinetičke karakteristike a posljedično i farmakodinamički učinci snažno ovise o farmakogenetičkom profilu jetrenih citokroma P450(CYP), posebice CYP2D6, koji potencijalnim stupanjem u interakcije lijek-lijek u polifarmaciji uzrokuje različite kliničke ishode (Overholser i sur., 2011).

1.2. Tramadol

Tramadol hidroklorid, svima dobro poznat kao tramadol, sintetiziran je 1962. godine a u kliničkoj upotrebi se nalazi od 1977. godine kada postaje dostupan na njemačkom tržištu. Nakon odobrenja američke Agencije za hranu i lijekove (FDA) 1995, biva prihvaćen u više od 100 zemalja svijeta te danas uživa status jednog od glavnih agensa u borbi protiv umjerene do snažne boli (Bravo i sur., 2017).

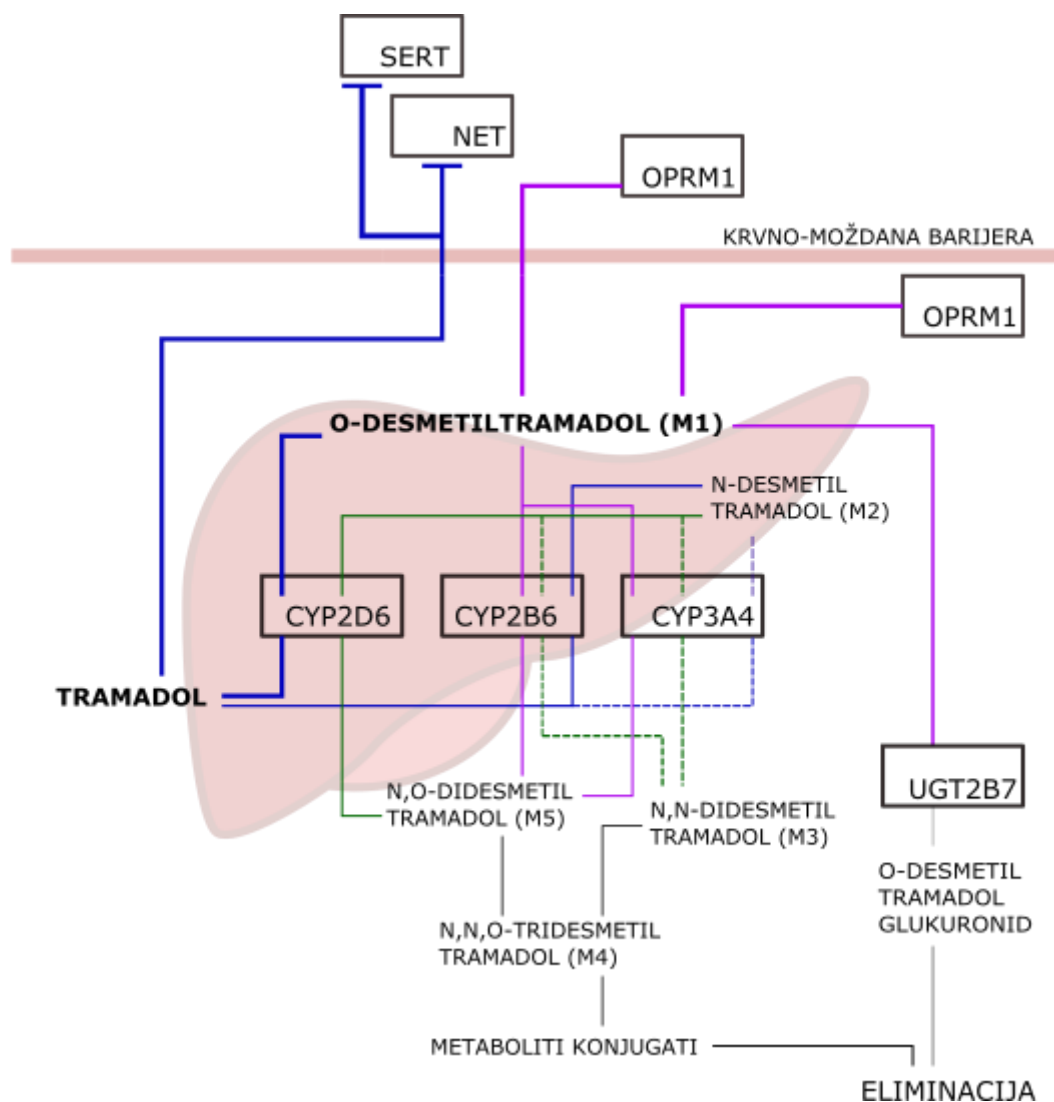
Riječ je o sintetičkom opioidnom lijeku koji se naziva još i atipični opioid jer svoje farmakološko djelovanje, za razliku od većine dobro poznatih opioida, temelji na inhibiciji ponovne pohrane serotonina i noradrenalina te agonizmu μ opioidnih receptora, maksimalno iskorištenom djelovanjem vlastitih metabolita. Nadalje, pojedine studije utvrdile su i supresivno djelovanje na M1 i M3 muskarinske receptore kolinergičkog sustava te antinociceptivno djelovanje otvaranjem naponskih kalijevih kanala (Bravo i sur, 2017). Tramadol se koristi u terapiji postoperativne boli, boli uzrokovane upalom i antitumorskom terapijom. Kliničkim studijama dokazana je i učinkovitost u terapiji kronične boli, depresije, opsesivno-kompulzivnog poremećaja te neuropatske boli gdje je upotreba opioida ograničena zbog pratećih nuspojava koje se pojavljuju uslijed kronične terapije (fizička ovisnost i tolerancija, depresija disanja, sedacija, konstipacija, mučnina i vrtoglavica) (Vijayan i sur., 2018, Vickers i sur., 1995, Yarramalle i sur., 2018). Navedene karakteristike same supstance u kombinaciji s brzim početkom djelovanja- tjelesnim metabolizmom i ukupnom bioraspoloživošću čine tramadol jedinstvenim analgetikom dualnog djelovanja na opioidni i monoaminski sustav te jednim od najpropisivanijih lijekova današnjice.

1.2.1. Farmakokinetika tramadola

Tramadol ((+)-cis-2-[(dimetilamino)metil]-1-(m-metoksifenil)cikloheksanol), strukturno nastao po uzoru na morfin i kodein, dostupan je kao racemična smjesa (+) i (-) tramadola i to u formulacijama za oralnu (kapi, kapsule, tablete produljenog oslobađanja), rektalnu

(supozitoriji) te intravenoznu, intramuskularnu, supkutanu (otopine) primjenu (Bravo i sur., 2017). Također se propisuje i u fiksnim kombinacijama s paracetamolom. Vršna serumska koncentracija postiže se dva sata nakon oralne administracije, a bioraspoloživost od 70 % nakon jedne doze raste do 90-100 % uzimanjem višekratnih doza zbog saturacije 1. faze hepatičkog metabolizma. Smatra se da se distribuira organizmom vrlo brzo i to s postojanim afinitetom za tjelesna tkiva; 20 % tramadola vezano je na proteine plazme dok mu je pretpostavljeni volumen distribucije 360 L (Kelly i sur., 2015). Tramadol prelazi placentarnu barijeru te se izlučuje i u majčino mlijeko (Palmer i sur., 2018).

U svrhu postizanja željenog djelovanja, tramadol biva ekstenzivno metaboliziran u jetri O- i N-demetilacijom te reakcijama konjugacije do formiranja glukuronida i sulfata. O-demetilacija tramadola katalizirana je enzimom CYP2D6 čime se stvara O-desmetiltramadol (M1), glavni metabolit efektivnog analgetskog djelovanja, dok CYP2B6 i CYP3A4 kataliziraju reakciju N-demetilacije kojom se stvara N-desmetiltramadol (M2). M1 i M2 se dalje metaboliziraju do sekundarnih metabolita N,N-didesmetiltramadola (M3) i N,O-didesmetiltramadola (M5) koji su potom metabolizirani do N,N,O-tridesmetiltramadola (M4). Od svih navedenih, najveću farmakološku aktivnost pokazuje O-desmetiltramadol (M1) a u manjoj mjeri i N,O-desmetiltramadol (M5). Metaboliti podliježu reakcijama glukuronidacije i sulfatacije te bivaju izlučeni urinom baš kao i 30 % početne, nepromijenjene supstance (Lehtonen i sur., 2010). Unatoč opsežnoj biotransformaciji putem jetre, bilijarna ekskrecija tramadola i njegovih rezidua iznosi oko 1 %. Smatra se da je poluvrijeme eliminacije tramadola oko 5-6 sati, zavisno o fenotipu CYP2D6 enzima o čemu će pak malo više riječi biti u nastavku, a glavnog metabolita O-desmetiltramadola oko 7-9 sati.



Slika: Sažeti prikaz metaboličkih puteva i ciljnog mjesta djelovanja tramadola te njegovih metabolita (aktivni metabolit: O-desmetiltramadol)

1.2.2. Farmakodinamika tramadola

U početku se smatralo da je opioidni sustav organizma jedini medijator anti-nociceptivnog djelovanja tramadola, no kako je primijećeno da ne uzrokuje „klasične“ nuspojave opioida poput konstipacije, respiratorne depresije i sedacije, istraživanjima se ustanovilo da ukupni učinak ovisi i o drugim sustavima, poglavito monoaminskom sustavu (Vazzana i sur., 2015). Danas je poznato da analgetskom djelovanju pridonose kako tramadol tako i njegovi metaboliti, različitim a opet komplementarnim djelovanjem, pri čemu tramadol inhibira ponovnu pohranu serotonina i noradrenalina a O-desmetiltramadol (M1) pokazuje značajno

viši afinitet za μ opioidne receptore ($K_i=0,0034 \mu\text{M}$) u odnosu na tramadol ($K_i=2,4 \mu\text{M}$), te je mnogo potentniji u postizanju analgezije (Tzvetkov i sur., 2011). Primarnu odgovornost M1 za analgeziju postignutu opioidnim receptorima potvrđuju također *in vitro* i kliničke studije kojima se uspoređivalo djelovanje enantiomera tramadola i metabolita na μ receptor, hSERT (humani serotoninski transporter), hNET (humani noradrenalinski transporter) (Gong i sur., 2014).

| Molekula | μ receptor (nM) | Ki hSERT (μM) | Ki hNET Ki (μM) |
|--------------------------------------|------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| (+/-)-tramadol | 2400 | 14,6 | 1,19 |
| (+)-tramadol | | 0,87 | |
| (-)-tramadol | | | 1,08 |
| (+)-O-desmetiltramadol (M1) | 3,4 | | |
| (-)-O-desmetiltramadol (M1) | 240 | | |
| (+/-)-N,O-didesmetiltramadol (M5) | 100 | | |

Tablica: afinitet vezanja racemične smjese i enantiomera tramadola, enantiomera i racemične smjese metabolita tramadola za ciljne receptore

Prema priloženoj tablici, tramadol je slabi agonist μ opioidnih receptora, dok je metabolit O-desmetiltramadol mnogo potentniji u vezanju na μ opioidne receptore i postizanju analgezije, čak i od M5. Nadalje, enantiomeri tramadola sinergizmom povećavaju efektivno djelovanje racemične smjese (+/-)-tramadola. (-)-tramadol je potentniji u inhibiciji ponovne pohrane noradrenalina ($K_i= 1,08 \mu\text{mol/l}$) i stimulaciji α -adrenergičkih receptora, a (+)-tramadol je potentniji u inhibiciji ponovne pohrane serotonina ($K_i= 0,87 \mu\text{mol/l}$) i stimulaciji otpuštanja serotonina (Raffa i sur., 2012).

Uobičajeno doziranje za umjerenu do jaku bol: 50-100 mg svakih 4 do 6 sati, prema potrebi; maksimalna dnevna doza 400 mg. Doziranje za terapiju kronične boli: 100 mg jednom dnevno, broj doza može biti povećan prema napatku liječnika; maksimalna dnevna doza 300 mg (Subedi i sur., 2019).

1.2.3. Utjecaj polimorfizma CYP2D6 na metabolizam tramadola

Valja istaknuti važnost i utjecaj polimorfizma CYP2D6, ključnog metabolizatora tramadola, na razinu lijeka i metabolita. Omjer tramadol/M1 znatno je veći u sporih metabolizatora nego u ostalih fenotipova pa na primjer, zbog smanjene razine M1, rijetko se doživljavaju nuspojave opioida poput mučnine, konstipacije, sedacije, respiratorne depresije i drugih (Swen i sur., 2011). S druge strane, povišena razina tramadola i njen utjecaj na inhibiciju ponovne pohrane serotonina i noradrenalina stvara značajan rizik pojavnosti serotoniniskog sindroma dok primjerena analgezija nije postignuta. Vrijedi i obrnuto, u brzih metabolizatora, gdje treba iznimno pratiti pojavu potencijalnih nuspojava i prilagoditi dozu lijeka (Swen i sur., 2011).

Rezultati istraživanja iz 2018. (Arafa i sur., 2018) pokazali su kako pojačan do normalan metabolizam putem CYP2D6 povećava rizik hepatotoksičnosti uslijed kronične primjene tramadola: akumulacija aktivnog metabolita M1 može dovesti do oksidacijskoga stresa hepatocita. Iz tog razloga, preporučeno je usklađivanje primijenjenih doza ovisno o fenotipu metabolizatora.

Takvi pacijenti, često pod kroničnom ili postoperativnom terapijom boli, nerijetko primaju i druge lijekove istovremeno. Najčešće se radi o lijekovima s djelovanjem na središnji živčani sustav (SŽS) u liječenju neuralgija i psihičkih poremećaja, ali i nekih antihistaminika koji mogu biti supstrati ili inhibitori CYP2D6 (CYP3A4). Sukladno navedenom, zabilježeni su mnogi slučajevi lijek-lijek interakcija s kodeinom, citalopramom, sertralinom, itd. koji su vodili k ozbiljnim posljedicama poput pojave serotoniniskog sindroma (Milano i sur., 2017, Mittino i sur., 2004, Park i sur., 2014).

1.3. FARMAKOGENETIKA

Farmakogenetika/farmakogenomika se bavi genetički uvjetovanim varijacijama u odgovoru pojedinca na primijenjeni lijek. U počecima farmakogenetika se uglavnom bavila proučavanjem varijabilnosti u metabolizmu lijeka, a danas uključuje i varijabilnosti u sustavima prijenosa lijeka preko barijera, receptora i drugim, s ciljem utvrđivanja utjecaja individualnih genetičkih varijacija na farmakokinetiku i farmakodinamiku lijekova, te na njihovu učinkovitost ili nuspojave. Dok farmakogenetika ispituje interindividualne razlike u slijedu DNA zbog polimorfizama i mutacija, jedne ili više genetičkih varijanti,

farmakogenomika proučava genom i opisuje višestruke varijacije, interakcije i funkcije više različitih gena te njihov utjecaj na farmakokinetičke (apsorpcija, raspodjela, metabolizam i eliminacija, ADME) i farmakodinamičke (ciljno mjesto djelovanja) parametre lijekova (O'Brien i sur., 1999). Sukladno navedenom, danas su identificirani mnogi polimorfni oblici gena metaboličkih enzima, transportnih proteina i receptora koji potencijalno moduliraju farmakološki odgovor organizma na terapiju (Evans i sur., 2003).

Glavni izvor razlika u terapijskom odgovoru leži upravo u farmakokinetičkoj varijabilnosti jer o njoj ovisi koncentracija lijeka na efektornom mjestu koja određuje njegovu učinkovitost i nepoželjne nuspojave. Praćenje koncentracija lijeka u plazmi može također i eliminirati istu kao uzrok nuspojava, što je korisno pri odluci o promjeni propisane terapije za određenu indikaciju, a danas se primjenjuje kada lijek/isti pokazuje jedno ili više sljedećih svojstava: usku terapijsku širinu, varijabilnu farmakokinetiku, nejasne simptome toksičnosti, odgođen klinički učinak, točno definiran odnos koncentracije s učinkom terapije (Bengtsson i sur., 2004).

Budući da se navedenim razlikama temelj može pronaći u genetičkom zapisu, smisao farmakogenomike je identifikacija genskih biljega za farmakogenetički profil koji određuje odgovarajući fenotip. Temeljem takve analize moguće je kreirati algoritam za odabir najprikladnijeg lijeka za svakoga pojedinog bolesnika ili skupine bolesnika (Steimer i sur., 2004, Weide i sur., 2005).

U genske čimbenike koji mogu modulirati učinkovitost terapije tramadolom i utjecati na interakcije lijek-lijek svakako pripadaju polimorfni metabolički enzimi - citokromi P450 (CYP), serotoninški transporter, noradrenalinški transporter, opioidni receptori i transportni sustav P-glikoprotein (Lasse i sur., 2015).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Ovim će se diplomskim radom prikazati enzimi i transporteri ključni za metaboličke puteve tramadola i čestih konkomitantno primijenjenih antidepresiva te način na koji njihovi genski polimorfizmi utječu na farmakokinetičke interakcije primijenjenih lijekova. Primjerima rezultata farmakogenetičkih ispitivanja enzima citokroma P450 i drugih relevantnih proteina rasvijetlit će se mogući mehanizmi nastanka serotoninskog sindroma, nuspojave u pacijenata na politerapiji koja uključuje tramadol i antidepresiv.

Cilj je rada i ukazati na važnost farmakogenetičke analize kao korisnog alata u svakodnevnoj kliničkoj praksi pri pravodobnom prepoznavanju rizika razvoja nuspojava serotoninskog sindroma te prilagodbi doziranja lijekova, ali i potencijal iste u personaliziranom pristupu svakom pacijentu radi postizanja željenih terapijskih ishoda i minimalizacije rizika nastanka nuspojava.

3. MATERIJALI I METODE

Metodologija izrade diplomskoga rada obuhvaća pregledni prikaz farmakoloških svojstava, farmakokinetike i farmakogenetike tramadola te interpretaciji 4 farmakogenetička nalaza pacijenata koji su na terapiju tramadolom razvili nuspojave u obliku serotonininskog sindroma. Prethodno je pribavljen informirani pristanak ispitanika. Zatražena i dobivena potpisana suglasnost pacijenata za korištenje podataka iz farmakogenetičkog nalaza omogućila je izradu ovog diplomskog rada.

U svrhu izrade rada pretraživane su mrežne stranice američkog društva The Pharmacogenomics Knowledge Base, PharmGKB (<http://www.pharmgkb.org>), koji prema nalogu konzorcija za implementaciju kliničke farmakogenomike (engl. *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*, CPIC) i nizozemske radne skupine (engl. *Dutch Pharmacogenetics Working Group*, DPWG) prikazuju lijekove i klinički relevantne gene koji utječu na farmakokinetiku i farmakodinamiku tih lijekova.

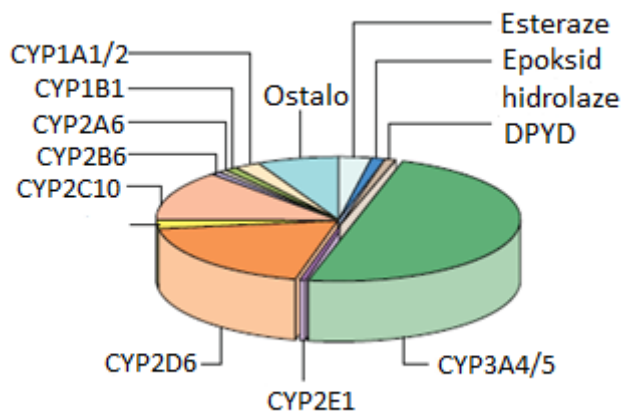
U skladu s time su pretraživane i baze podataka DrugBank (<https://www.drugbank.ca/>) te Genetics Home Reference Američke nacionalne medicinske knjižnice (<https://ghr.nlm.nih.gov/>). Ostali znanstveni i stručni članci pronađeni su pretraživanjem bibliografskih baza podataka (Pubmed, Science direct) prema ključnim riječima: tramadol, drug metabolism, CYP450 polymorphism, antidepressants, adverse drug reactions, itd., udžbenika iz farmakologije i biokemije lijekova.

U analizi slučajeva pacijenata detaljno su analizirani mogući rizični čimbenici za razvoj nuspojava.

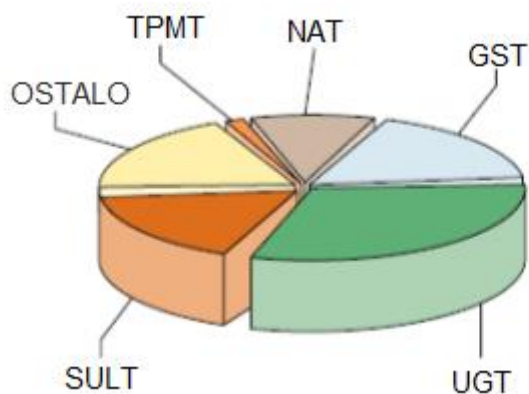
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Citokrom P450

Enzimske sustave koji sudjeluju u metabolizmu lijekova čine enzimi reakcija faze I (reakcije modifikacije) i faze II (reakcije konjugacije) s primarnom svrhom da lijekove učine hidrofilnima tj. pogodnima za izlučivanje. Prilikom postupne razgradnje lijeka, enzimi faze I stvaraju hidrofilne funkcionalne skupine koje mogu naknadno služiti i kao mjesta za konjugaciju glukuronske kiseline, sulfata ili glutaciona, koje pak kataliziraju enzimi faze II. Gotovo 90 % funkcije enzima faze I obavlja sustav citokroma P450 (McDonnell i sur., 2013).



Slika: Sažeti prikaz udjela pojedinih enzima faze I u organizmu (izvor: Brunton i sur., 2017)



Slika: Sažeti prikaz udjela pojedinih enzima faze II u organizmu (izvor: Brunton i sur., 2017)

Enzimaska skupina citokroma P450 (CYP) najvažniji je enzimski sustav uključen u metabolizam velikog broja endogenih (steroidi, masne kiseline, prostaglandini, leukotrieni i biogeni amini) i egzogenih spojeva (lijekovi, biljne toksini i toksični spojevi iz okoliša) (Rendić i sur., 2018).

Aktivnost enzima citokrom P450 locirana je uglavnom u jetri, ali je prisutna i u drugim organima i tkivima (crijeva, pluća, bubrezi, mozak, limfociti, placenta). Na primjer, dok je CYP3A4 najučestaliji u jetri i probavnom traktu, to nije slučaj za inducibilni CYP1A1 koji je prisutan u plućima i drugim organima a inducira se između ostalog pušenjem (Rendić i sur., 2002). Očito je da P450 enzimi imaju važnu ulogu u regulaciji intenziteta i trajanja aktivnosti lijeka, u detoksifikaciji ksenobiotika i aktivaciji ksenobiotika u toksične i mutagene i kancerogene metabolite (Yoshihiko i sur., 2015, Rendić i sur., 2018)

Klasifikacija i označavanje enzima superporodice CYP temelji se na sličnosti slijeda aminokiselina proteinskog lanca.

| Superporodica | CYP | Sličnost primarne strukture |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Porodica | CYP2 | ≥40 % |
| Potporodica | CYP2C, CYP2D, CYPE,... | >55 % |
| Enzim | CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19,... | >98 % |

Tablica: sažeti prikaz klasifikacije i označavanja citokroma P450

U čovjeka je identificirano i strukturno karakterizirano 57 funkcionalnih enzima citokrom P450 koji su klasificirani u 18 porodica i 44 potporodice, a metabolički aktivne jetrene citokrome nalazimo svrstane u četiri P450 genske porodice: CYP1, CYP2, CYP3 i CYP4 (Guengerich i sur., 2016).

Količina i aktivnost P450 varira među pojedinim osobama zbog genetičkih i vanjskih čimbenika.

Uzroci smanjene aktivnosti P450 mogu biti:

- a) genske mutacije - blokirana sinteza enzima ili su sintetizirani katalitički inaktivni;
- b) izlaganje vanjskim čimbenicima (infektivne bolesti ili ksenobiotici): suprimirana ekspresija P450 ili ksenobiotici djeluju kao inhibitori/inaktivatori postojećih P450.

Inhibicijom citokroma P450 jedan lijek može utjecati na biotransformaciju drugog lijeka, a to može voditi k povećanom farmakološkom ili toksičnom učinku drugog lijeka (Alderman i sur.,1997). Tako inhibicija citokroma P450 oponaša genetički uzrokovanu insuficijentnu ekspresiju citokroma P450. Jaki inhibitori jesu lijekovi koji dovode do povećanja izloženosti lijeku supstratu mjerenoj prema bioraspoloživosti (AUC, Area Under the Curve) većoj 5 puta od očekivane ili smanjuju njegov klirens za više od 80 %. Umjerenim inhibitorima smatraju se lijekovi koji uzrokuju povećanje AUC najmanje 2 puta, ali ne više od 5 puta ili smanjenje klirensa između 50-80 %, a slabim inhibitorima lijekovi koji uzrokuju povećanje AUC najmanje 1,25 puta, ali manje od 2 puta ili smanjenje klirensa između 20-50 % (Jingjing i sur., 2018).

Uzroci povećane aktivnosti P450:

- a) genske duplikacije - prekomjerna ekspresija P450;
- b) vanjski čimbenici - ksenobiotici kao induktori sinteze citokroma P450 ili stimulatori postojećih enzima.

Indukcijom citokroma P450, vremenski zahtjevnijim procesom zbog sinteze novih enzima, jedan lijek može ubrzati metabolizam drugog lijeka i tako mu sniziti koncentraciju u organizmu i djelotvornost ili pak povećati terapijski učinak njegovih aktivnih metabolita (Bleakley i sur., 2012, Tanaka i sur., 1999, Touw i sur., 1997). Jakim induktorima smatraju se lijekovi koji uzrokuju smanjenje bioraspoloživosti lijeka supstrata više od 80 %, umjerenim induktorima oni koji dovode do smanjenja AUC između 50-80%, a slabim induktorima oni koji uzrokuju smanjenje AUC od 20 do 50%.

Navedeni vanjski čimbenici, koji mogu utjecati na aktivnost enzima citokroma P450, osim lijekova uključuju također hranu (npr. povrće iz porodice crucifera: kelj, repa, kupus; grejp, gospina trava; na roštilju pečeno meso) i društvene navike (alkohol, pušenje) te bolesti (dijabetes, upala, hiper/ hipotiroidizam) (Sasaki i sur., 2017, Stavropoulou, 2018).

Prilikom provjere interakcija lijekova poseban oprez je potreban za supstrate CYP enzima koji imaju uski terapijski indeks. Kod primjene takvih lijekova postoji mala razlika između toksične i nedjelotvorne koncentracije u krvi, što je od velikog kliničkog značaja jer vrlo male promjene u izloženosti tim lijekovima mogu dovesti do ozbiljnih posljedica (Jingjing i sur., 2018). Također treba imati na umu da nisu sve interakcije od jednake važnosti za kliničku

praksu, te je kod nekih lijekova moguća i velika promjena koncentracije u plazmi bez promjene učinka ili pojave toksičnosti lijeka.

Prema klasifikaciji konzorcija za implementaciju kliničke farmakogenomike (engl. *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*, CPIC) postoje 4 različita fenotipa kojima se opisuje metabolička aktivnost pojedinih enzima:

- **spori metabolizatori** (engl. *poor metabolizer*, PM) imaju 2 inaktivna alela i mogu iskusiti više nuspojava pri prosječnim dozama zbog smanjenog metabolizma i povećane koncentracije lijeka u organizmu;

- **srednje brzi metabolizatori** (engl. *intermediate metabolizer*, IM), imaju jedan inaktivni alel i jedan ograničene funkcije (heterozigoti) a mogu biti homozigoti za dva alela reducirane aktivnosti. Oni mogu iskusiti u nešto manjem obimu nuspojave koje se javljaju u sporih metabolizatora;

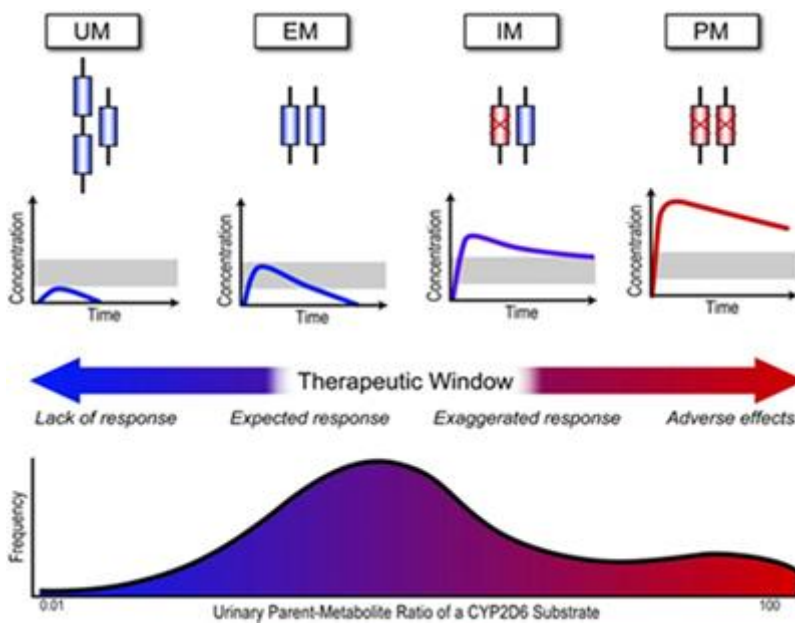
- **brzi metabolizatori** (engl. *extensive metabolizer*, EM) imaju bar jedan potpuno funkcionalni alel ili 2 alela ograničene funkcije i pokazuju očekivani učinak pri primjeni prosječnih doza lijeka;

- **ultra brzi metabolizatori** (engl. *Ultra-rapid metabolizer*, UM) imaju više od 2 funkcionalna alela što rezultira pojačanim metabolizmom lijeka. Ovo je autosomno dominantno svojstvo i nastaje kao posljedica amplifikacije gena (Štefanović i sur., 2003, Hamadeh i sur., 2014).

Dva su načina na koji se može odrediti enzimsku aktivnost citokroma P450 i brzina metaboliziranja lijeka u pojedinca: Genotipizacijom pri čemu se dobiva uvid u gene koji kodiraju određeni enzim i koje su mutacije gena prisutne a rezultiraju određenim fenotipom iliti aktivnosti enzima. Identificirane mutacije tako uzrokuju prekomjernu ekspresiju i enzimsku aktivnost (duplikacija gena), izostanak aktivnog proteina (nul-aleli) ili sintezu enzima smanjene katalitičke sposobnosti (inaktivirajući aleli). Budući da genotip ostaje nepromijenjen tijekom života, dovoljno je samo jednom obaviti ovu analizu (Lassen i sur., 2015, Yang i sur., 2016).

Drugi način određivanja aktivnosti enzima je fenotipizacija, metoda kojom se nakon ingestije probe (probnog ksenobiotika) mjeri koncentracija ksenobiotika i njegovih metabolita u urinu ili u plazmi. Vrlo je važno da nastanak metabolita određenog ksenobiotika ovisi isključivo o

funkciji ispitivanog enzima kako bi mu se odredila aktivnost. Fenotip se procjenjuje prema metaboličkom omjeru (engl. *metabolic ratio*, MR) koncentracija izvorni lijek/metabolit, a moguće metode određivanja su: tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), spregnuta plinska ili tekućinska kromatografija s masenom spektrometrijom (GC-MS ili LC-MS). Fenotipizacija omogućuje praćenje potencijalnih interakcija lijekova u polifarmaciji (Parmentier i sur., 2019).

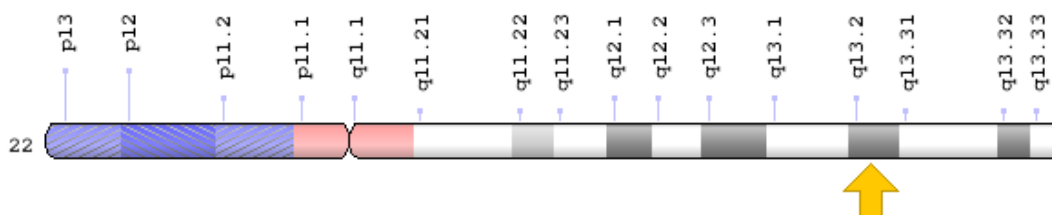


Slika: Prikaz povezanosti genotipa CYP2D6 i metaboličkog profila pojedinog fenotipa tog enzima te utjecaj istih na bioraspoloživost i eliminaciju lijekova supstrata (izvor: Shin i Johnson, 2007)

4.1.1. CYP2D6

CYP2D6 jedan je od najistraživanijih CYP enzima, odgovoran za jetreni metabolizam 25 % danas dostupnih lijekova (Zhou i sur, 2009).

Sparteina i debrisoquin su dosta dugo vremena bili zlatni standardi u određivanju aktivnosti CYP2D6, no kako ih danas vrlo rijetko nalazimo u općoj upotrebi, alternativni lijekovi su zauzeli njihovo mjesto. Najčešći je dekstrometorfan a pored njega i tramadol, pomoću kojeg možemo fenotipizirati CYP2D6 osjetljivošću od 100 % i specifičnošću od 99,6 %.



Slika: Kromosom 22, pozicija gena *CYP2D6* (izvor: Genetics Home Reference- NIH)

Gen *CYP2D6* lociran je na 22q13.2 (kromosom 22, dulja kromatida: q, pozicija 13.2) te se sastoji od devet egzona i osam introna. U kliničkoj praksi analiza *CYP2D6**3, *4, *5, *6, *41 mutiranih alela i genskih multiplikacija osigurava s 99 %-tnom sigurnošću otkrivanje sporih i brzih metabolizatora u bjelačkoj populaciji (Lassen i sur., 2015).

Danas nam je poznato više od 74 varijante *CYP2D6* alela (od *2 do *75), uključujući funkcionalni divlji tip alela *CYP2D6**1 te set subvarijanti npr. *CYP2D6**2A-M, a frekvencija svakog od njih razlikuje se među etničkim skupinama.

| Fenotip | Genotip | Enzimska aktivnost; Ishod |
|--|--|--|
| Spori metabolizator (Poor metabolizer, PM) | <i>CYP2D6</i> *3, <i>CYP2D6</i> *4 <i>CYP2D6</i> *5, <i>CYP2D6</i> *6 <i>CYP2D6</i> *11, <i>CYP2D6</i> *16 <i>CYP2D6</i> *44, <i>CYP2D6</i> *56 | Nema aktivnosti/ niska aktivnost; Moguć razvoj neželjenih nuspojava |
| Srednje brzi metabolizator (Intermediate metabolizer, IM) | <i>CYP2D6</i> *10, <i>CYP2D6</i> *14 <i>CYP2D6</i> *17, <i>CYP2D6</i> *50 | Umanjena aktivnost u odnosu na brze metabolizatore; Moguća pojava nekih nuspojava kao i kod sporih metabolizatora |
| Brzi metabolizator (Extensive metabolizer, EM) | <i>CYP2D6</i> *1, <i>CYP2D6</i> *2 | Normalna/očekivana enzimska aktivnost na primjenjenu dozu lijeka |
| Ultra brzi metabolizator | Duplikacije funkcionalnih alela ili višestruke duplikacije alela reducirane funkcije | Pojačana aktivnost; Moguć izostanak učinka zbog nedostatne koncentracije lijeka |

Tablica: Primjeri značajnih polimorfizama *CYP2D6* (prilagođeno prema PharmGKB i DrugBank bazama podataka; napomena: popis nije sveobuhvatan)

Najviše sporih metabolizatora identificirano je među Europljanima i bijele rase (7-10 %), od kojih *3, *4, *5, *6 i *41 čine oko 97 % alela zaslužnih za genotip sporog metabolizatora u bijele rase. Niže stope prisutne su u latino-američkom (2-7 %) i azijskom stanovništvu (0-5 %). Najveće razlike uočene su pak u afričkim populacijama, ovisno o geografskom podrijetlu (0-19 %). Prevalencija ultra brzih metabolizatora najniža je u Sjevernih Europljana (0,8-3,6 %), nešto veća u američke bijele i crne rase (4,3-4,5 %), a značajno viša na Mediteranu (7-10 %). Najveća stopa UM je među Etiopljanima i Saudijskoj Arabiji (16 %, 20 %).

Osim u jetri, CYP2D6 prisutan je i u središnjem živčanom sustavu gdje aktivno sudjeluje u metabolizmu vrlo važnih endogenih supstrata kao što su amini i steroidi. Neka istraživanja su dokazala da je regeneracija serotonina iz 5-metoksitriptamina te konverzija p- i m- tiramina u dopamin posredovana s CYP2D6, što znači da je ovaj polimorfni enzim izravno uključen u serotoninsku i dopaminsku homeostazu (Yu i sur., 2003, Niwa i sur., 2004) .

| supstrat | | inhibitor | | induktor |
|--------------|-------------|---------------|----------------|--------------|
| kodein | haloperidol | difenhidramin | citalopram | rifampicin |
| deksmetorfan | paroksetin | metoklopramid | escitalopram | deksametazon |
| tramadol | imipramin | amiodaron | sertralin | fenitoin |
| oksikodon | fluoksetin | ranitidin | duloksetin | fosfenitoin |
| amiodaron | aripirazol | cimetidin | fluoksetin | glutetimid |
| bisoprolol | atomoksetin | celekoksib | klomipramin | grizeofulvin |
| karvedilol | risperidon | doksorubicin | bupropioin | |
| propranolol | duloksetin | ritonavir | levomepromazin | |
| kaptopril | amfetamin | terbinafin | | |
| Trimetoprim | tioridazin | | | |
| tamoksifen | | | | |

Tablica: CYP2D6 supstrati, inhibitori, induktori (prilagođeno prema PharmGKB i DrugBank bazama podataka; napomena: popis nije sveobuhvatan)

4.1.2. CYP3A4

Predominantno eksprimiran citokrom P450 u jetri upravo je CYP3A4, enzim odgovoran za biotransformaciju 50-60 % lijekova ali i nekih endogenih spojeva npr. steroida. Varijabilnost aktivnosti CYP3A4 iznimno je velika unutar populacije, između ostalog zbog podložnosti

ovog enzima da bude inhibiran/induciran ksenobioticima, što rezultira interindividualnim razlikama u distribuciji supstrata.

Gen *CYP3A4* je lociran na kromosomu 7q21 i sastoji se od trinaest egzona. Unutar gena *CYP3A4* opisano je dvadesetak varijantnih alela koji se u populaciji bijelaca pojavljuju s učestalošću do 7 %, međutim tek je za manji broj potvrđeno da modificiraju funkciju enzima. Značajna genska varijanta je *CYP3A4*1B*, prisutna 2-9 % u nekih populacija, povezana s pojačanom aktivnošću enzima. Međutim još postoje kontroverze oko ovog polimorfizma i neki autori drže da je ukupna aktivnost ovisna i o ekspresiji *CYP3A5*. Neke od kasnije otkrivenih varijanti su *CYP3A4*20* i *CYP3A4*22* koje rezultiraju inaktivnošću i smanjenom aktivnošću *CYP3A4*. Obzirom na dosadašnje rezultate istraživanja, te kvantitetu jetrenih *CYP3A4*, smatra se da su varijacije ovog enzima u zdravih ljudi uglavnom rezultat individualnih razlika u regulaciji homeostatskih mehanizama.

| supstrat | | inhibitor | | induktor | |
|--------------|--------------|--------------|----------------|----------------|--------|
| alprazolam | tamoksifen | amlodipin | sertranil | atorvastatin | kofein |
| klonazepam | doksorubicin | diltiazem | klaritromicin | simvastatin | |
| citalopram | amiodaron | nifedipin | eritromicin | fenobarbital | |
| fluoksetin | ivabradin | verapamil | ciprofloksacin | efavirenz | |
| aripirazol | varfarin | amiodaron | klotrimazol | lopinavir | |
| bupiron | sildenafil | tadalafil | mikonazol | nevirapin | |
| karbamazepin | verapamil | bromokriptin | tamoksifen | karbamazepin | |
| risperidon | amlodipin | klonazepam | levonorgestrel | okskarbazepin | |
| mirtazapin | diltiazem | fluoksetin | cimetidin | fenitoin | |
| zolpidem | atorvastatin | haloperidol | raloksifen | pirimidon | |
| ziprasidon | estradiol | nortriptilin | sok grejpa | valproatna kis | |

Tablica: *CYP3A4* supstrati, inhibitori, induktori (prilagođeno prema PharmGKB i DrugBank bazama podataka; napomena: popis nije sveobuhvatan)

4.1.3. *CYP2C19*

CYP2C19 je još jedan član superporodice enzima citokrom P450 koji igra važnu ulogu u metabolizmu 10 % opće propisivanih lijekova poput inhibitora protonske pumpe, antipsihotika, antidepresiva i klopidogrela (Scott i sur., 2012). Gen *CYP2C19* je lociran na

kromosomu 10q24 i sastoji se od devet egzona. Do sada je dokumentirano više od 30 različitih alela gena *CYP2C19* (Hu i sur., 2012) i ustanovljena značajna međuetnička varijabilnost u učestalosti pojedinih fenotipova: incidencija slabih metabolizatora je 1-5 % u bijeloj populaciji, 13-23 % u orijentalnoj populaciji, 6 % među Etiopljanima, a čak 70 % među stanovništvom Vanuatu (otoci Tana i Malakula) (Goldstein i sur., 1997, Dojo i sur., 2001, Desta i sur., 2002, Ganoci L i sur., 2017). Spore metabolizatore karakteriziraju aleli *CYP2C19*(*2/*2, *2/*3, *3/*3), srednje brze metabolizatore aleli *CYP2C19*(*1/*2, *1/*3), a ultra brze metabolizatore *CYP2C19*(*1/*17, *17/*17). Ekstenzivni metabolizatori su homozigoti alela *CYP2C19**1.

| supstrat | | inhibitor | | induktor | |
|--------------|---------------|-------------|-------------|--------------|-----------|
| aripiprazol | difenhidramin | cimetidin | omeprazol | artemisin | hipericin |
| escitalopram | mefenitoin | klopidogrel | vorikonazol | karbamazepin | |
| citalopram | propranolol | efavirenz | indometacin | fenitoin | |
| fluoksetin | omeprazol | esomeprazol | topiramat | pirimidon | |
| fenobarbital | fenitoin | felbamat | probenecid | rifampin | |
| desipramin | rabeprazol | flukonazol | | | |
| diazepam | pantoprazol | fluoksetin | | | |
| doksepin | sertralin | izonijazid | | | |
| metadon | | tiklopidin | | | |

Tablica: CYP2C19 supstrati, inhibitori, induktori (prilagođeno prema PharmGKB i DrugBank bazama podataka; napomena: popis nije sveobuhvatan)

4.2. UGT2B7

Osim citokroma P450, UGT enzimi također igraju ključnu ulogu u metabolizmu različitih endogenih i egzogenih spojeva. Reakcije konjugacije katalizirane ovom superporodicom enzima, predstavljaju najvažniji put detoksikacije za veliki broj lijekova, kemijskih tvari, kancerogena i drugih oksidirajućih metabolita. U ljudi, oko 40-70 % lijekova metabolizira se putem reakcije glukuronidacije (Jančova i sur., 2012). Gen *UGT2B7* nalazi se na kromosomu 4q13.2 a do sada su opisana ukupno 4 polimorfizma alela *UGT2B7*(*1-*4) koja mogu utjecati na ekspresiju enzima i njegovu aktivnost (Li Y i sur., 2012.) Također, analiza *UGT2B7* halpotipova otkrila je šest promotorskih varijanti (-1306 G>A, -1299 C>T, -1112 C>T, -900 A>G, -327 G>A i -161 C>T) koje mogu modulirati ekspresiju *UGT2B7* i koje su u

ravnotežnoj povezanosti s polimorfizmom *UGT2B7*2* (Parmar i sur., 2011). Mnogo se diskutiralo o utjecaju polimorfizama *UGT2B7* na metabolizam lijekova i o njihovom kliničkom značaju. Iako su mišljenja podijeljena, nedavno je istraživanje dokazalo utjecaj polimorfizma *C-161T* na bioraspoloživost valproata u pacijenata s epilepsijom, pri čemu homozigoti *TT* karakteriziraju spore metabolizatore te sadrže više plazmatske koncentracije valproata u krvi (Wang i sur., 2018).

| | supstrat | inhibitor | induktor |
|---------------|---------------|-------------|--------------|
| Morfin | tapentadol | ketokonazol | fenobarbital |
| Kodein | dapagliflozin | | |
| Naproksen | propranolol | | |
| Ibuprofen | karvedilol | | |
| Flunitrazepam | labetalol | | |
| Oksazepam | ezetimib | | |
| Karbamazepin | tamoksifen | | |
| Valproat | | | |
| Simvastatin | | | |

Tablica: UGT2B7 supstrati, inhibitori, induktori (prilagođeno prema PharmGKB i DrugBank bazama podataka; napomena: popis nije sveobuhvatan)

4.3. P-glikoprotein

P-glikoprotein (P-gp/MDR1/ABCB1) je integralni izbacivački (engl. *efflux*) membranski protein s primarnom ulogom zaštite stanica od toksičnih tvari. Budući da su mnogi lijekovi supstrati ovog proteina, njegovim djelovanjem dolazi do promjena farmakokinetičkih parametara, međusobnih interakcija te terapijske učinkovitosti što se posebno očituje u tumorskim stanicama koje su zbog povećane ekspresije Pgp otpornije na terapiju antitumorskim lijekovima. Stanice crijeva, placente, bubrega, gušterače, testisa, krvno moždane barijere, limfociti i makrofagi također ekspimiraju Pgp što rezultira smanjenom apsorpcijom lijeka iz gastrointestinalnog sustava, pojačanom eliminacijom lijeka u žuč i mokraću i usporenim ulaskom nekih lijekova u središnji živčani sustav (Van Asperen i sur., 1998, 1999).

Gen *MDR1/ABCB1* je lociran na kromosomu 7q21 a najpoznatiji polimorfizmi kodirajuće regije *C1236T(rs1128503)*, *G2677T(rs2032582)* i *C3435T(rs1045642)* povezuju se s varijacijama u ekspresiji Pgp. Homozigoti alela *3435T* imaju smanjenu funkciju i ekspresiju ovog proteina što se smatra odgovornim za povećanje bioraspoloživosti i plazmatske koncentracije mnogih lijekova pa tako i tramadola, što sugerira i studija (Slanar i sur., 2007) na zdravim dobrovoljcima koja uspostavlja pozitivnu korelaciju broja *3435T* alela i maksimalne koncentracije lijeka u krvi. Unatoč tome što se tramadol smatra supstratom Pgp, rezultati dosadašnjih istraživanja o važnosti polimorfizama za farmakokinetički i farmakodinamički profil tramadola nisu pokazali promjene u doživljaju boli utjecajem *C3435T*, stoga trenutno nema čvrstih zaključaka o kliničkoj značajnosti ovog odnosa (Slanar i sur., 2012). Danas je jasno da se mnoge farmakokinetičke interakcije lijekova odvijaju na razini P-glikoproteina a najčešće su one koje uključuju lijekove inhibitore poput sertralina, citaloprama, venlafaksina i nekih drugih antidepresiva novije generacije što može dovesti do porasta koncentracije lijekova kojima bi Pgp inače smanjio bioraspoloživost (Breitenstein i sur., 2016). Isti lijekovi, sada povećane koncentracije, mogli bi dovesti do pojave značajnih interakcija na jednoj drugoj razini ADME putova: hipotetski inhibitori CYP2D6 umanjuju konverziju tramadola u M1, povisuju mu koncentraciju te povećavaju rizik nastanka nuspojava na razini serotonergičkog sustava (ataksija, insomnija, agitacija).

Danas se sve više pažnje posvećuje genu *ABCB1* jer je postalo očito da i sami polimorfizmi, pored inhibitora/induktora enzima, vode k varijabilnostima u učinkovitosti i posljedično trebaju personalizirani terapijski pristup (Mercer i sur., 2011, Lassen i sur., 2015).

| supstrat | inhibitor | induktor |
|----------------|-------------|---------------|
| verapamil | cetirizin | karbamazepin |
| metoprolol | loratadin | trazodon |
| sumatriptan | flurazepam | sertralin |
| loperamid | haloperidol | levotiroksin |
| imipramin | paroksetin | cimetidin |
| deksametazon | fluoksetin | fenobarbital |
| ciprofloksacin | simvastatin | spironolakton |
| kvetiapin | metadon | |
| citalopram | citalopram | |

Tablica: Pgp supstrati, inhibitori, induktori (prilagođeno prema PharmGKB i DrugBank bazama podataka; napomena: popis nije sveobuhvatan)

4.4.OPRM1

Opioidni receptori pripadaju superporodici receptora spregnutih s G-proteinima čija aktivacija vodi do pojave analgezije. Poznata su tri tipa opioidnih receptora: μ (mi), δ (delta) i κ (kappa), a supstrati su im endogeni opiodi endorfini, enkefalini i dinorfini koji se s različitim afinitetom vežu na svakog od njih.

δ opioidni receptori smješteni su primarno na aksonima, i sukladno tome djeluju presinaptički. μ i κ opioidni receptori nađeni su združeni s neuronalnom plazma membranom u dendritima pa prema tome djeluju postsinaptički. Kod nekih populacija neurona μ i κ opioidni receptori smješteni su na aksonima (Elde i sur., 1995). μ opioidni receptor (MOR), nazvan prema svom potpunom agonistu morfinu, glavni je analgetski receptor koji se nalazi u mozgu, leđnoj moždini, perifernim senzornim neuronima te u intestinalnom traktu. Afinitet endogenih opioda prema ovom receptoru ide u slijedu: endorfini > enkefalini > dinorfini, a isti je ujedno i ciljno mjesto mnogih sintetskih opioidnih analgetika i metabolita poput M1.

Poznate su 3 vrste μ opioidnih receptora koji se međusobno razlikuju prema djelovanju i potencijalnim nuspojavama:

μ_1 :analgezija, fizička ovisnost;

μ_2 :respiratorna depresija, mioza, euforija, smanjeni motilitet GIT, fizička ovisnost;

μ_3 :potencijalna vazodilatacija.

Opioidni μ receptor kodira gen *OPRM1*, čiji se najistraživaniji polimorfizam očituje u zamjeni baze adenina gvaninom na poziciji 118 (*A118G*) (*rs1799971*). Istraživanja su pokazala da pacijenti nositelji varijantnog alela *118G* osjećaju snažniju postoperativnu bol, dok pacijenti s *OPRM1118AA* genotipom imaju bolji analgetski učinak (Liu i sur., 2012, Hajj i sur., 2017). Neki smatraju da ovaj polimorfizam vodi do promjene u funkciji samog receptora radi čega su povećane potrebe za višim dozama morfina i tramadola te da to vrijedi za sve pacijente s barem jednim *alelom 118G*. Novija istraživanja u takvih pacijenata nisu dokazala razlike u aktivnosti ili efikasnosti već smanjenu ekspresiju MOR, što ipak potvrđuje povezanost pojave polimorfizma i potrebe za višim dozama opioda (Gray i sur., 2018). Nadalje, veća stopa nuspojava poput mučnine i povraćanja zabilježena je kod homozigota, s genotipom *118AA*. S druge strane studija Europskog udruženja za genetiku, provedena na 2294 pacijenata koji su primali opioide uslijed terapije citostaticima (Klepstad i sur., 2011),

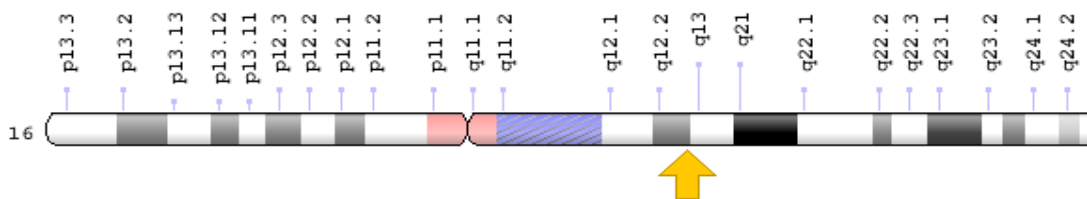
evalualuirala je doziranja opioidnih lijekova te nije pokazala značajnu povezanost polimorfizma gena *OPRM1* s promijenjenim odgovorom organizma na uspostavljeno doziranje lijeka.

Unatoč tomu što su velike nade i napori uloženi u analizu farmakogenetičkog profila opioidnih receptora i potencijalnih utjecaja na terapijski odgovor, mnoga klinička istraživanja sadrže nedovoljno jasne dokaze koji bi se mogli koristiti kao smjernice za optimalno doziranje opioida te se trenutno ne smatraju relevantnima za kliničku praksu.

4.5. NET

Noradrenalinski transporter (NET) transmembranski je monoaminski protein zadužen za ponovnu pohranu noradrenalina i dopamina iz živčanih sinapsa u presinaptički živčani završetak. Sudjeluje u regulaciji razine slobodnih neurotransmitora autonomnog živčanog sustava te se nalazi na noradrenergičkim neuronima simpatikusa i živcima koji inerviraju adrenalnu medulu, pluća i posteljicu (Torres i sur., 2003).

Poremećaj u funkciji ovog transportera povezan je s ortostatskom intolerancijom gdje zbog previsoke koncentracije noradrenalina u sinaptičkoj pukotini, uslijed nedovoljne pohrane, nastaju simptomi poput slabosti, palpitacija, tahikardije, glavobolje i anksioznosti. S druge strane, blokadom rada transportera provodimo liječenje depresije, poremećaja hiperaktivnosti i deficita pažnje (eng. *Attention Deficit and Hyperactivity Disorder*, ADHD), ovisnosti, neurodegenerativnih bolesti poput Parkinsonove i Alzheimerove bolesti.



Slika: Kromosom 16, pozicija gena *SLC6A2* (izvor: Genetics Home Reference- NIH)

Gen koji kodira za noradrenalinski prijenosnik, *SLC6A2*, nalazi se na kromosomu 16, lokus 16q12.2. Detektirano je više polimorfizama *SLC6A2*, najznačajniji je „missense“ mutacija visoko konzervirane regije pri čemu je zamjena aminokiseline alanina prolinom (Ala457Pro)

dovela do ekspresije NET-a snižene funkcije, a očituje se u već navedenom primjeru ortostatske intolerancije (Hahn i sur., 2002). Danas nam je poznato da tramadol djeluje i na NET i to vezanjem na mjesto vezanja desipramina. Dokazano je da kompetitivno inhibira ponovnu pohranu noradrenalina i dopamina NET-om (Rickli i sur., 2017, Arakawa i sur., 2019). Iako su provedena ispitivanja polimorfizama koja su se povezivala s različitim neuropsihijatrijskim stanjima, niti jedno od njih dosad nije pokazalo značajan utjecaj na vezno mjesto za tramadol niti na plazmatske koncentracije tramadola i metabolita.

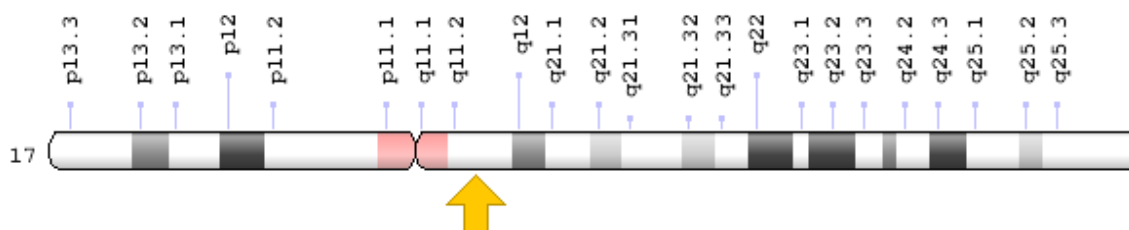
4.6. SERT

Serotoninski transporter (SERT ili HTT) glavni je regulator izvanstanične razine serotonina koji ponovnom pohranom serotonina i dopamina iz živčanih sinapsi modulira djelovanje neurotransmitora na serotonergični sustav. Ovaj visoko konzervirani transporter nalazi se u presinaptičkim membranama nervnih završetaka srednjeg mozga i moždanog debla, placenti, plućima i krvnim pločicama gdje igra važnu ulogu u regulaciji agregacije trombocita.

Promjene u djelovanju i ekspresiji serotoninskog transportera, često su vezane uz polimorfizme *SERT* gena, koji dovode do pojava različitih disbalansa u ljudskom organizmu poput alkoholizma, kliničke depresije, opsesivno-kompulzivnog poremećaja, hipertenzije, bipolarnim poremećajima i drugim. Koliko je SERT važan opisuje i činjenica da je upravo on ciljno mjesto djelovanja današnjih inhibitora ponovne pohrane serotonina i tri/tetracikličkih antidepresiva što rezultira višim izvanstaničnim koncentracijama serotonina i boljim raspoloženjem pacijenata (tramadol također sprječava ponovnu pohranu serotonina iako na još uvijek nerazjašnjen način).

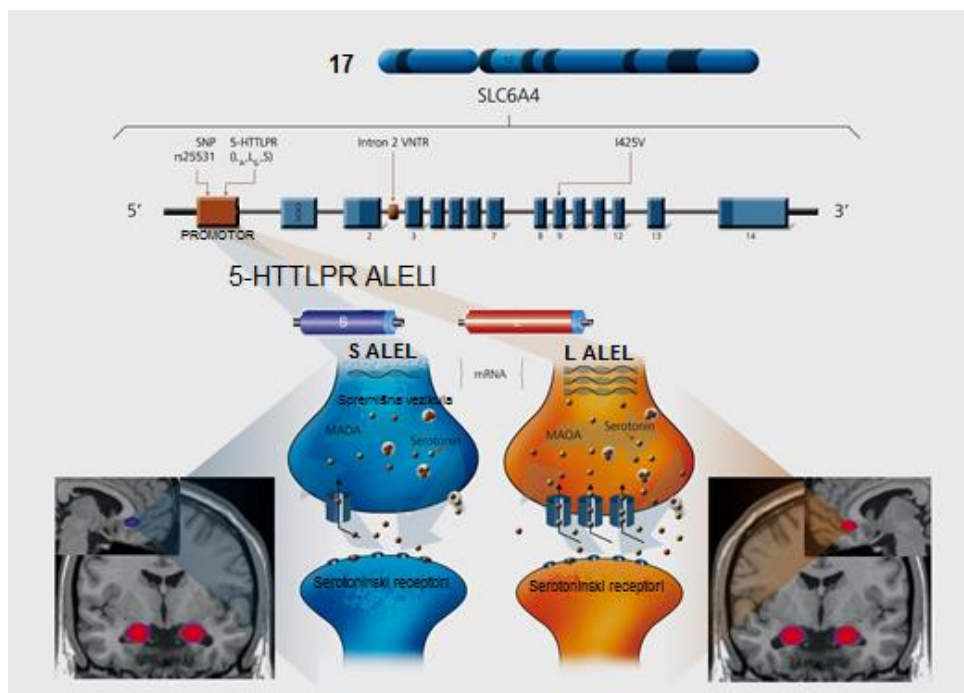
| SSRI | SNRI | triciklički antidepresivi | ostali antidepresivi | opioidni analgetici | ostalo |
|--------------|----------------|------------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------|
| escitalopram | venlafaksin | klomipramin | mirtazapin | tramadol | pseudoefedrin |
| paroksetin | desvenlafaksin | imipramin | vortioksetin | deksstrometorfan | kokain |
| fluoksetin | duloksetin | amitriptilin | trazodon | tapentadol | deksfenfluramin |
| sertralinal | | | | meperidin | sibutramin |
| olanzapin | | | | | |

Tablica: Značajni inhibitori serotoninskog transportera (SERT); SSRI= selektivni inhibitori ponovne pohrane serotonina; SNRI= inhibitori ponovne pohrane serotonina i noradrenalina (prilagođeno prema DrugBank bazi podataka; napomena: popis nije sveobuhvatan)



Slika: Kromosom 17, pozicija gena *SLC6A4* (izvor: Genetics Home Reference- NIH)

Gen *SERT* pozicioniran je na *SLC6A4* genskom lokusu na kromosomu 17q11.1-17q12, a sastoji se od 14 egzona (Murphy i sur., 2004). Opisana su dva česta polimorfizma gena *SERT*. Prvi, varijabilni broj tandemski ponavljajućih sljedova (engl. variable number of tandem repeats, VNTR) u drugom intronu sastoji se od četiri varijante s 9,10,11 ili 12 kopija 17-pb (parova baza) ponavljajućeg elementa. Zadnji navedeni smatra se dugim alelom, označen "l" (long) alel, a svi ostali kao "s" (short) aleli. Ovaj je polimorfizam smješten izvan kodirajuće regije (egzona) gena *SERT*, ali se pretpostavlja da utječe na regulacijski element genskog prijepisa. Drugi polimorfizam, insercija/delecija, nalazi se u promotorskoj regiji *SERT* (*SERTPR* ili *5-HTTLPR*) i opisane su četiri varijante s 14, 16, 18 ili 20 ponavljajućih ulomaka od 20–23 pb. Polimorfizam s 14 ulomaka označava se kao "S", a svi drugi kao "L" aleli. "L" alelu se pripisuje povećana transkripcija i viša biološka aktivnost proteina SERT (Peitl i sur., 2015, Lassen i sur., 2015).



Slika: Prikaz utjecaja 5-HTTLPR polimorfizma na ekspresiju SERT i aktivnost serotoninskog sustava

Prema nekim studijama, pacijenti s dijagnozom kliničke depresije i „L“ alelom u svom genotipu (L/L, L/s) imaju bolji odgovor na terapiju SSRI od pacijenata S/S genotipa pri čemu je kod potonjih pacijenata zabilježeno smanjenje ponovne pohrane serotonina za 50 % (Baz i sur., 2018, Božina i sur., 2008). Postoje istraživanja koja su ispitivala povezanost terapije tramadolom i potencijalne ishode ovisno o postojećem SERT polimorfizmu *in vitro* (Fox i sur, 2009.), no s još uvijek nedovoljno jasnim rezultatima za upotrebu u kliničkoj praksi.

4.7. Serotoninski sindrom i interakcije lijekova

Serotoninski sindrom (SS) je skupina simptoma koja se javlja uslijed promjene osjetljivosti na razine serotonina u središnjem i perifernom živčanom sustavu, uzrokovane pretjeranom aktivnošću serotoninskih 5-HT1A i 5-HT2A receptora. Simptomi koji se javljaju nazivaju se i kliničkom trijadom abnormaliteta i uključuju:

1. neuromuskularni sustav - mioklonus, hiperrefleksija, hipertoniya, tremor, drhtanje;
2. autonomni sustav - hipertermija, hipertranspiracija;
3. kognitivni sustav - glavobolja, konfuzija, halucinacije, koma.

Također su prisutni i manji simptomi poput insomnije, agitacije, nemira, tahikardije, tahipneje, hiper/hipotenzije, midrijaze, ataksije i nekoordiniranosti koje ne smatramo akutno opasnima po život (Volpi-Abadie i sur., 2013). Upravo isti, zajedno s pogrešnom dijagnostikom i liječničkom nepažnjom, često budu neprimijećeni kao znak nastanka serotoninskog sindroma što je krajnje zabrinjavajuće obzirom da postoje brojni slučajevi istog zabilježeni u svim dobnim skupinama, od novorođenčadi do starijih pacijenata (Raczs i sur., 2018, Aboukarr i sur., 2018, Rickli i sur., 2018, Orlova i sur., 2018)

| SIMPTOMI SEROTONINSKOG SINDROMA | | |
|---|--------------------------------------|---|
| BLAGI (vrlo često neprepoznati i prolazni) | UMJERENI (poželjno liječenje) | TEŠKI (medicinski hitno stanje) |
| Afebrilitet | Tahikardija | Hipertermija >40°C |
| Povremeni tremor i trzanje | Hipotenzija | Generalizirani epileptički napadaji |
| Mioklonus | Hipertermija | Tahipneja |
| Dijaforeza | Hiperaktivnost intestinalnog trakta | Tahikardija |
| Nemir | Dijaforeza | Stanje šoka |
| Midrijaza | Hiperrefleksija/klonus | Hipertonus |
| Tahikardija | Tremor | Multiorgansko zatajenje vitalnih organa |
| Hiperrefleksija | Promjena mentalnog statusa | Intenzivna distonija i diskinezija |
| | | Delirij |
| | | Promjena mentalnog statusa |
| | | Koma |

Tablica: Klasifikacija najčešćih simptoma serotoninskog sindroma

Mnogi od ovih simptoma uglavnom su posljedica visokih doza jednog serotonergičkog lijeka ili interakcija lijek-lijek koje sinergistički uzrokuju prekomjerne razine serotonina u SŽS. Mehanizmi koji uzrokuju pojavu sindroma uključuju pojačanu produkciju serotonina, inhibiciju ponovne pohrane serotonina, pojačan efluks serotonina i stimulaciju serotoninskih receptora. Neki od lijekova mogu posredovati kroz više mehanizama. Također je bitno reći da inhibitori citokroma P450, na primjer inhibitori ponovne pohrane serotonina, mogu rezultirati

akumulacijom drugih serotonergičnih lijekova koji se metaboliziraju istim enzimom a time i porastom serotoninske aktivnosti u živčanom sustavu (Shakoor i sur., 2014, Hoffelt i sur., 2016, Guo i sur., 2018).

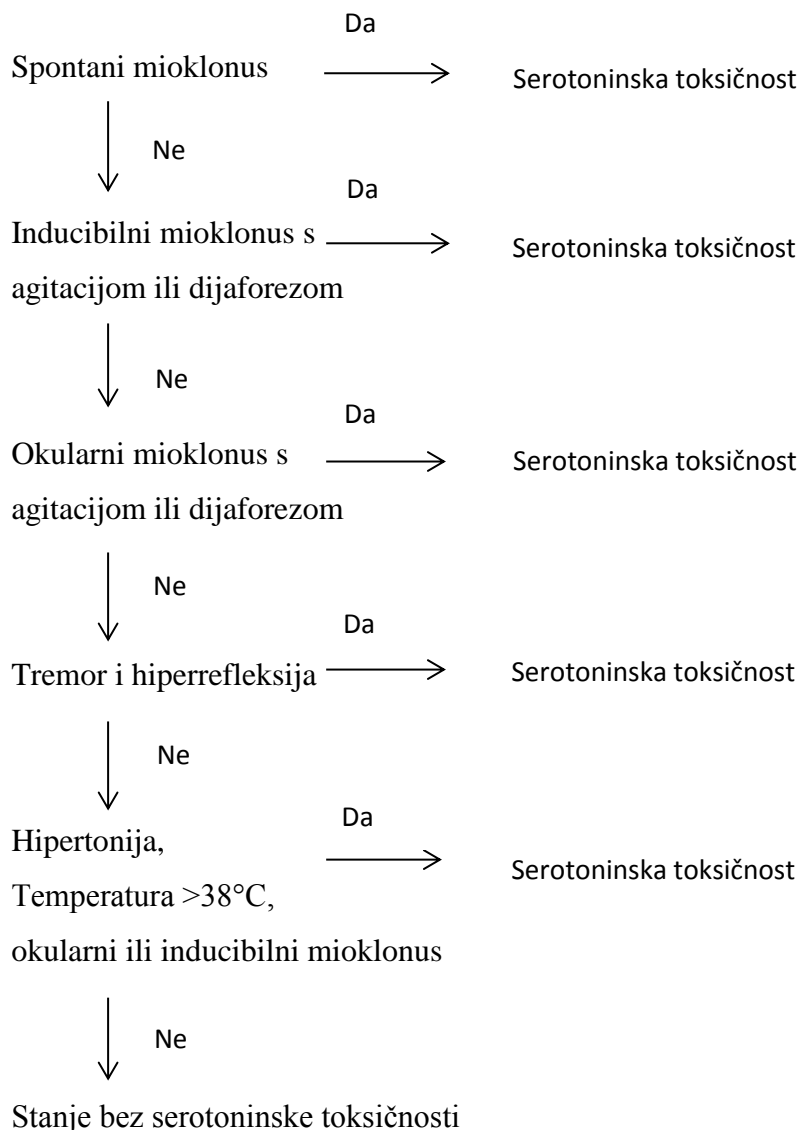
Lijekovi koji mogu inducirati serotoninski sindrom

| | | |
|---|--|--|
| antidepresivi | inhibitori ponovne pohrane serotonina (ssri) | citalopram, escitalopram, fluoksetin, fluvoksamin, paroksetin, sertralin |
| | inhibitori ponovne pohrane serotonina i noradrenalina (snri) | venlafaksin, duloksetin, desvenlafaksin |
| | triciklički antidepresivi (tca) | imipramin, desipramin, amitriptilin, tianeptin |
| | inhibitori monoaminooksidaze (maoi) | moklobemid, razagilin, selegilin |
| | ostali | trazodon, bupropion, mirtazapin, vortiooksetin |
| anti-migrenici (5ht-1 agonisti) | triptani | sumatriptan, zolmitriptan, almotriptan, eletriptan |
| analgetici | opioidi | tramadol, tapentadol, oksikodon, buprenorfin, kodein, meperidin |
| stimulatori sžs i psihodelične droge | | amfetamin, sibutramin, metilfenidat, metamfetamin, kokain, lsd |
| ostali lijekovi | | granisetron, metoklopramid, droperidol, ondansetron l-dopa, buspiron, litij, valproat, risperidon, olanzapin, karbamazepin linezolid, ritonavir, klorfenamin |
| bezreceptni pripravci | biljne droge | gospina trava, sirijska rutvica, ginseng, muškatni oraščić |
| | ostalo | sirup za kašalj s dekstrometorfanom, dodaci prehrani s triptofanom |

Tablica: Najčešći uzročnici serotoninskog sindroma

Dijagnostički algoritam razvijen kao prva pomoć u određivanju pojave SS naziva se Hunterovi kriteriji serotoninske toksičnosti (engl. *Hunter Serotonin Toxicity Criteria*, HSTC) a sastoji se od 5 simptoma ili grupe simptoma od kojih se barem jedan mora pojaviti istodobno s primjenom serotonergički aktivnog lijeka. HSTC se dosad pokazao 84 % osjetljivim i 97 % specifičnim u dijagnozi SS zbog čega mu se danas daje prednost pred ostalim dijagnostičkim metodama (Ables i sur., 2010).

Hunterovi kriteriji određivanja serotoninske toksičnosti:



Terapija uslijed pojave serotoninskog sindroma započinje ukidanjem serotonergičkog lijeka a temelji se na 5 osnovnih načela prema Hunteru. Potpuni oporavak unutar 24 sata doživi oko 70 % pacijenata, 40 % pacijenata zahtijevaju prijem u jedinicu intenzivne njege dok je 25 %

pacijenata podvrgnuto trahealnoj intubaciji (Mills i sur., 1995). Suportivna terapija, uključujući primjenu benzodiazepina, sljedeći je korak u zbrinjavanju pacijenta. Nadalje, preporuča se primjena neselektivnih antagonista serotoninskih receptora kao što je ciproheptadin, neselektivni antagonist 5-HT_{1A} i 5HT_{2A} receptora, koji je danas jedan od antidota u upotrebi u mnogim američkim bolnicama (Maryland Poison Center: Antidote List, 2019). Alternativna simptomatska terapija uključuje i propranolol, beta blokator i antagonist 5HT_{1A} koji bi mogao atenuirati SS-om uzrokovanu tahikardiju. Ipak, primjena propranolola, kao i klorpromazina koji sličnim djelovanjem na 5HT_{2A} vodi do sedacije, nije preporučena zbog rizika nastanka hipotenzije (Rosebush, 2019). Prema nekim studijama na miševima antagonist NMDA receptora memantin pokazuje značajne rezultate u terapiji SS, iako još uvijek nema dokaza o efikasnosti primjene za tu indikaciju u ljudi.

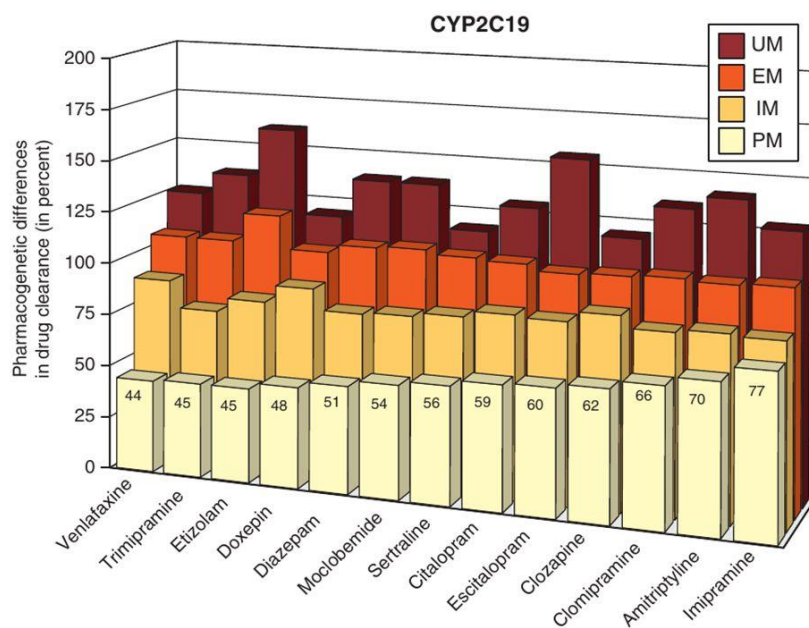
Pet osnovnih principa terapije serotoninskog sindroma:

1. prestanak primjene svih serotonergičnih agenasa;
2. očuvanje vitalnih znakova organizma suportivnom terapijom;
3. upotreba benzodiazepina za sedaciju;
4. primjena serotoninskih antagonista, ukoliko je moguće;
5. pažljivo procijeniti prednosti i mane nastavka primjene serotonergičnog lijeka po prestanku simptoma.

Iako su SSRI najviše povezivani s pojavom serotoninskog sindroma postoji znatna potreba za oprezom kada je u pitanju tramadol, i to čak u monoterapiji pri visokim dozama budući da inhibira ponovnu pohranu serotonina (Vazzana i sur., 2015). Najčešći su takvi primjeri kod ne/namjernih predoziranja tramadolom (Bekjarovski i sur., 2012, Ryan i sur., 2015). Nuspojave predoziranja uključuju depresiju SŽS, mučninu i povraćanje, tahikardiju i epileptičke napadaje (Frank i sur., 2008, Guo i sur., 2018). Nadalje, treba obratiti pozornost da su i pacijenti s poremećenim metabolizmom tramadola i ponovne pohrane serotonina također pod visokim rizikom razvoja SS: polimorfizmi CYP2D6 rezultiraju različitim omjerima tramadola i O-desmetiltramadola u plazmi. Spori metabolizatori sadrže nižu koncentraciju M1, što rezultira neadekvatnom analgezijom, a višu razinu tramadola što povećava rizik već opisanog incidenta. Studija na miševima pokazala je da tramadol sam može uzrokovati serotoninu slične simptome (engl. serotonin-like syndrome) u miševa bez dvije alelne kopije serotoninskog transportera (Baldo i sur., 2018).

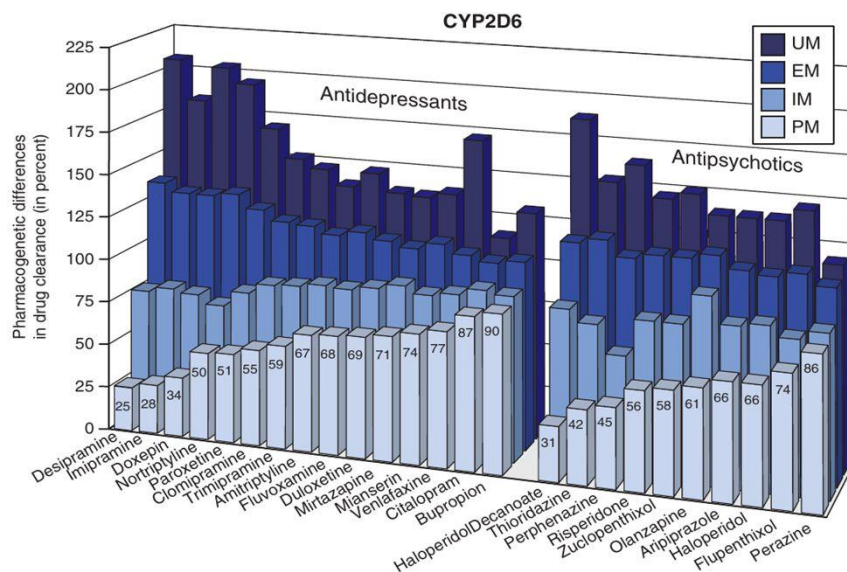
Istodobna primjena tramadola i ostalih serotonergičkih supstanci nužno zahtijeva oprez. Retrospektivnom analizom (Shatin i sur., 2005) ustanovljeno je da je 20,7 % pacijenata na terapiji tramadolom također primalo i antidepresive unutar 30 dana prije incidenta. Sinergizam koji ovi lijekovi postižu na razini serotoninskog sustava, zajedno s inhibicijom CYP2D6 i povišenim vrijednostima (+)-tramadola, često uzrokuje teške posljedice. Zabilježeni su slučajevi SS primjenom tramadola i inhibitora CYP2D6 paroksetina i venlafaksina (Nelson i sur., 2012, Abadie i sur., 2015).

Obzirom na već spomenute interakcije lijekova metaboliziranih različitim CYP enzimima, posebice opioida i antidepresiva, danas se razvijaju preporuke prilagodbe doziranja istih obzirom na polimorfizme dotičnih enzima. Sljedeći primjeri iz literature slikovito prikazuje navedene preporuke na temelju farmakokinetičkih parametara (bioraspoloživosti, ravnotežne koncentracije te eliminacije lijeka) prema fenotipu CYP2C19 i CYP2D6, P450 visoko zastupljenih u metabolizmu serotonergičnih lijekova. Poželjno doziranje za pojedini lijek iskazano je u postotcima u odnosu na preporučenu dozu lijeka od proizvođača (100 %).



From: JC Stingl et al., Genetic variability of drug-metabolizing enzymes: the dual impact on psychiatric therapy and regulation of brain function. Mol Psych (2012), 1-15

Slika: Preporuke prilagođenog doziranja lijekova obzirom na CYP2C19 fenotip (izvor: Stingl i sur., 2012)



From: JC Stingl et al., Genetic variability of drug-metabolizing enzymes: the dual impact on psychiatric therapy and regulation of brain function. Mol Psych (2012), 1-15

Slika: Preporuke prilagođenog doziranja lijekova obzirom na CYP2D6 fenotip (izvor: Stingl i sur., 2012)

4.8. Farmakogenetička analiza u klinici

Personalizirani pristup liječenju ima veliki potencijal kako za samog bolesnika, tako i za kliničare. Obzirom da omogućuje optimizaciju liječenja svakog pojedinačnog pacijenta, farmakogenetička analiza se smatra jednom od neizostavnih čimbenika personalizirane terapije.

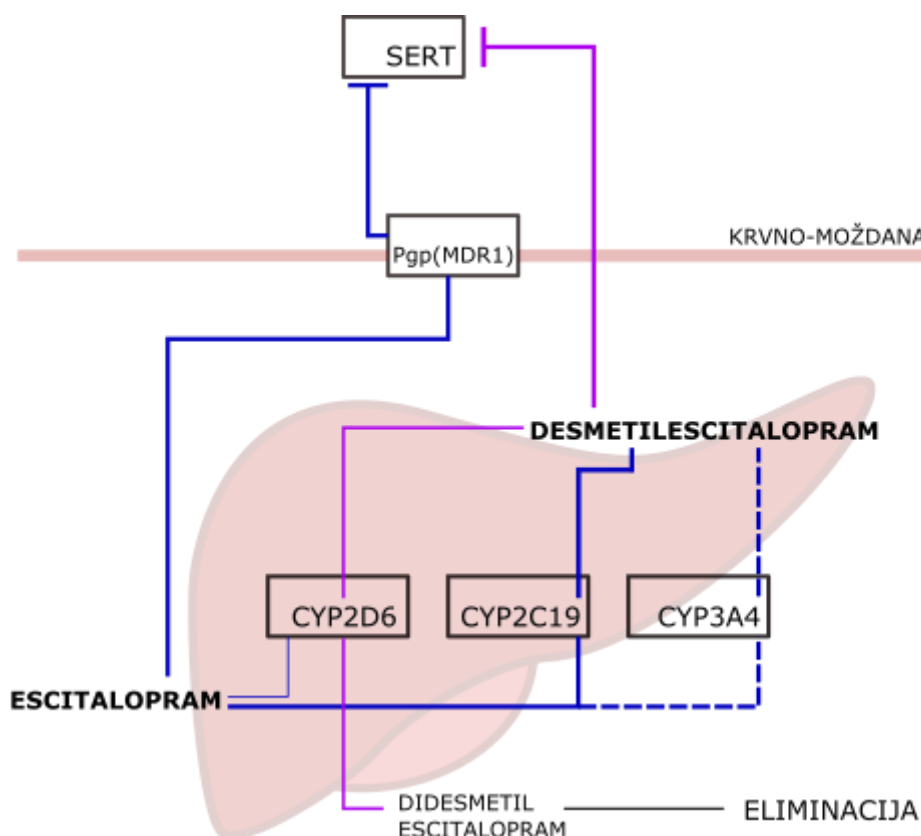
S ciljem da se ista obrazloži kao koristan alat u prepoznavanju simptoma i dijagnosticiranju serotoniniskog sindroma te prilagodbe doziranja lijekova slijede prikazi kliničkih slučajeva serotoniniskoga sindroma, uzrokovanog konkomitantnom terapijom tramadola i respektivnih antidepresiva.

U svrhu zaštite osobnih podataka, u tabličnom prikazu izdvojeni su pacijenti s pripadajućim rednim brojem te rezultati analiza s istaknutim lijekom u kroničnoj terapiji.

| Pacijent (dob, g) | CYP2D6 genotip/fenotip | CYP2C19 genotip/fenotip | CYP3A4 genotip/fenotip | MDR1/ ABCB1 | UGT2B7 -161C>T | SERT PR L/S | Konkomitant na terapija |
|-------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------|----------------|-------------|-------------------------|
| 1. (56) | *1/*4 (IM) | *1/*2 (IM) | *22/*22 (PM) | C/T | C/T | S/S | escitalopram |
| 2. (49) | *4/*4 (PM) | *1/*1 (EM) | *1/*22 (IM) | T/T | T/T | L/S | venlafaksin |
| 3. (63) | *1/*4 (IM) | *2/*2 (PM) | *1/*22 (IM) | C/T | C/T | L/S | escitalopram |
| 4. (66) | *1/*4 (IM) | *1/*1 (EM) | *1/*1 (EM) | T/T | T/T | S/S | paroksetin |

Pacijenti su primali višemjesečnu terapiju tramadolom i navedenim antidepresivom, a svaki od njih je razvio svojevrsan oblik serotoniniskog sindroma.

4.8.1. Escitalopram



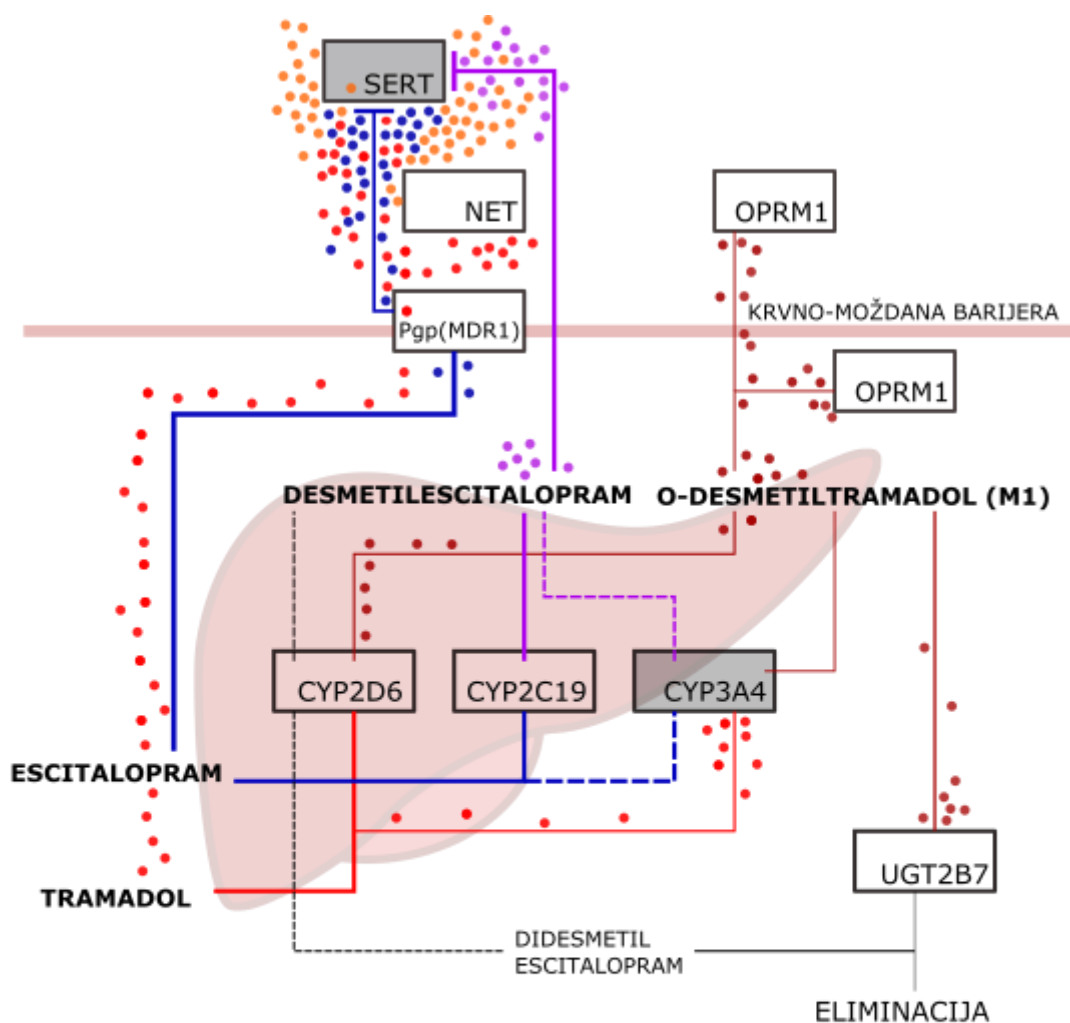
Slika: Sažeti prikaz metaboličkih puteva i ciljnog mjesta escitaloprama te njegovih metabolita (aktivni metabolit: desmetilescitalopram)

Escitalopram je selektivni inhibitor ponovne pohrane serotonina (SSRI) koji alosterički inhibira serotoninski transporter (SERT) vezanjem na mjesto različito od veznog mjesta za serotonin. Visoka lipofilnost i brza apsorpcija escitaloprama vode do 80 %-tne bioraspoloživosti te postizanja vršne koncentracije unutar 1-4 sata nakon oralne administracije lijeka.

Hepatički sistem citokroma P450 metabolizira escitalopram do njegovih manje aktivnih metabolita, prvenstveno oksidacijom N-desmetilescitaloprama putem CYP2C19 i CYP3A4 a potom oviseći isključivo o CYP2D6 do N-didesmetilescitaloprama. Metaboliti se uglavnom eliminiraju urinom. Nekoliko različitih faktora može snažno utjecati na učinkovitost ovog lijeka. Aktivnost P-gp određuje količinu lijeka koji može prijeći krvno-moždanu barijeru i time dospjeti na mjesto djelovanja a polimorfizmi *CYP2C19* i *CYP3A4* diktiraju razlike u koncentracijama escitaloprama i njegovih metabolita čime izravno pridonose toksičnim učincima ili pak nedovoljnom učinku terapije. Važno je spomenuti i da N-desmetilescitalopram vrši djelovanje kao SSRI, no manje djelotvorno od lijeka-roditelja.

Način na koji su faktori prikazani u tablici pridonijeli djelovanju escitaloprama razmotrit će se kroz primjere dvaju pacijenata AG i VG te ćemo također objasniti aspekte interakcije istog s tramadolom.

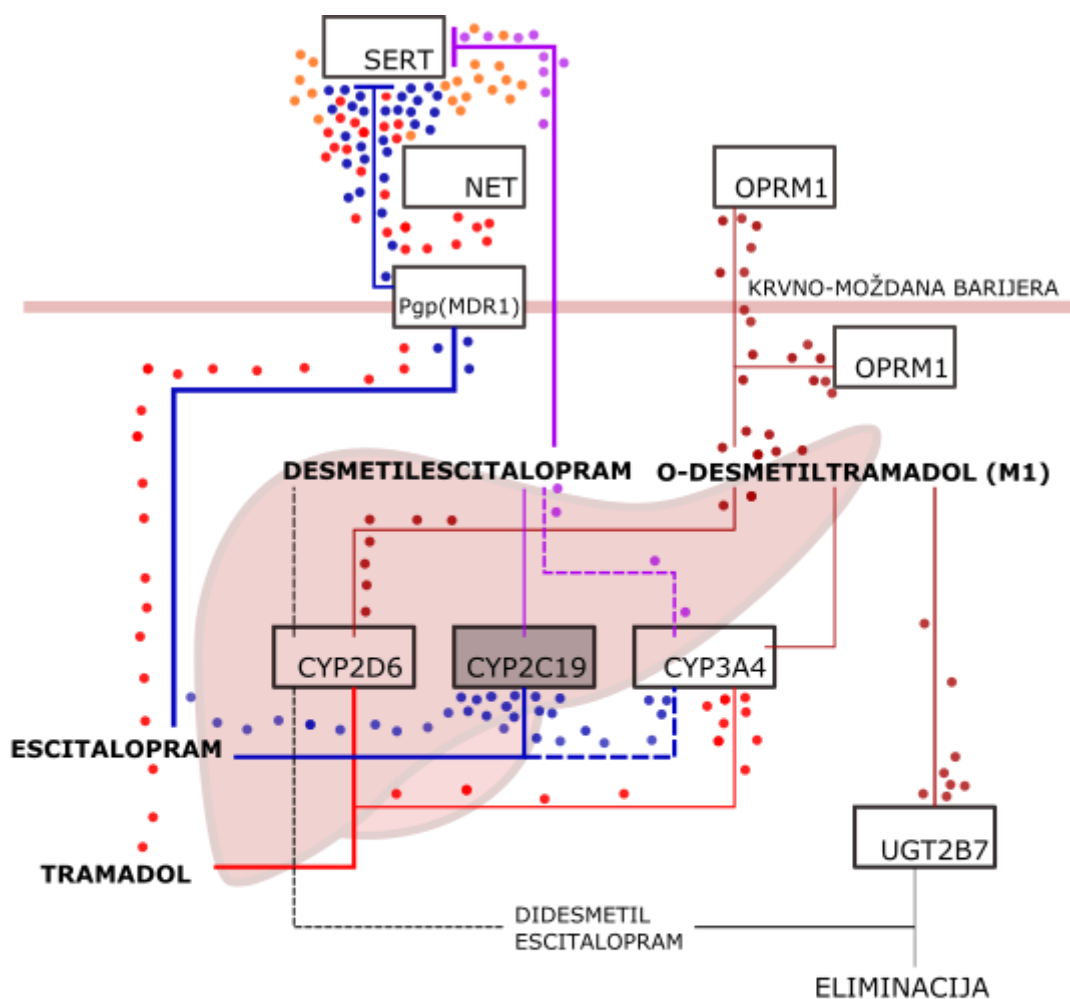
Pacijent 1 je srednje brzi metabolizator (IM) za CYP2C19 i spori za CYP3A4 što dovodi do visokih koncentracija escitaloprama u organizmu, a zbog srednje brzog metabolizma CYP2D6 smanjena je i eliminacija N-desmetilescitaloprama što rezultira višim koncentracijama SSRI u središnjem živčanom sustavu. Osim razine metabolizma, važna je i umanjena funkcija P-gp zbog koje veće koncentracije lijeka prelaze krvno-moždanu barijeru (KMB) te je uvelike smanjena funkcija serotoninskog transportera u povratu serotonina. Zaključno, kod ovog pacijenta čak i sam escitalopram čini rizik od nastanka serotoninskog sindroma a konkomitantno s tramadolom, kojemu je ionako koncentracija veća od očekivane zbog spomenutog polimorfizma *CYP3A4* i *CYP2D6*, pojava simptoma gotovo je neizbježna.



- ENZIM SPORI METABOLIZATOR/TRANSPORTER SMANJENE FUNKCIJE
- SEROTONIN
- TRAMADOL
- METABOLIT TRAMADOLA

Slika: Sažeti prikaz utjecaja farmakogenetičkih parametara na metaboličke puteve i ciljna mjesta djelovanja escitaloprama i tramadola te njihovih aktivnih metabolita demetilcitaloprama i desvenlafaksina u pacijenta 1

Pacijent 3 kao srednje brzi metabolizator CYP2D6 i CYP3A4 definitivno postiže veći omjer tramadol/metaboliti, a zbog sporog metabolizma CYP2C19 u njegovom organizmu dolazi do značajnog nakupljanja escitaloprama te visokog rizika toksičnosti ovog lijeka. Nadalje, kao i kod prethodnog pacijenta, ovi lijekovi lako prelaze KMB te inhibicijom serotoninskog transportera vode do visokih razina serotonina u središnjem živčanom sustavu.

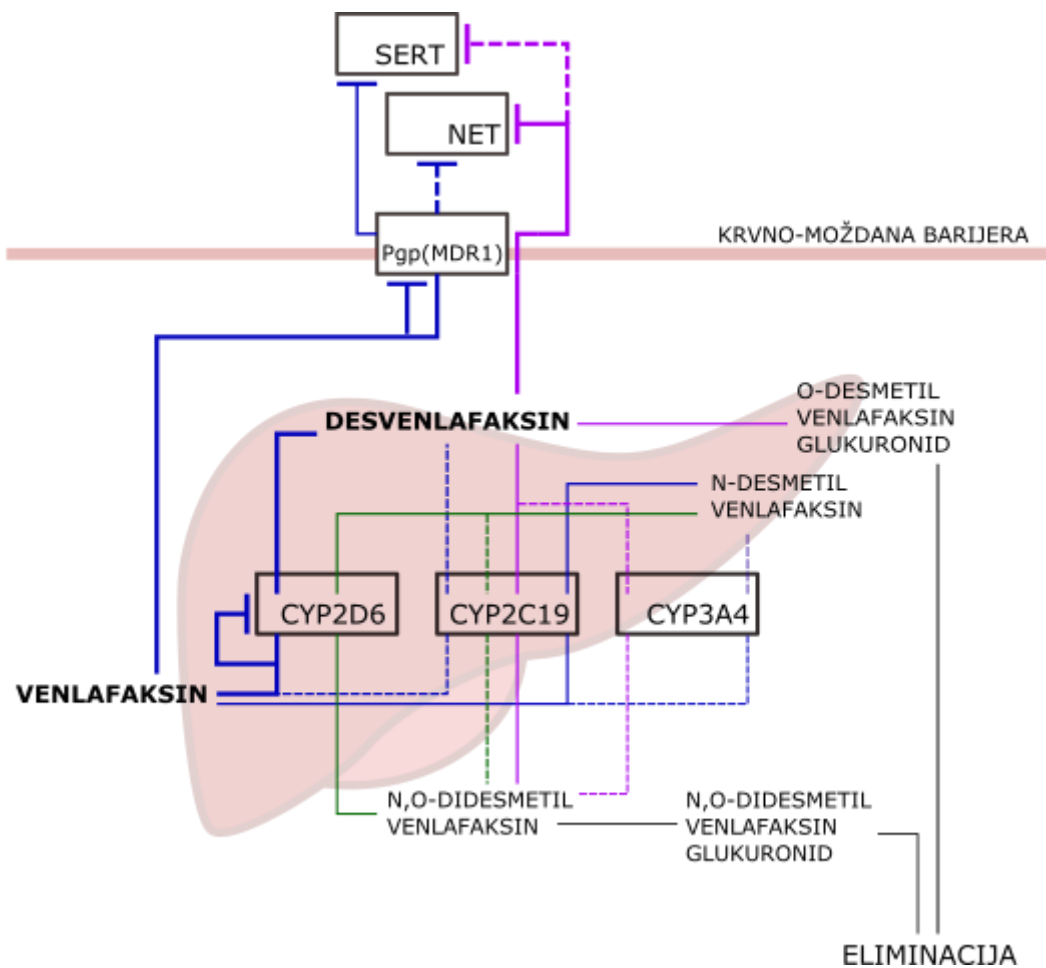


- ENZIM SPORI METABOLIZATOR/TRANSPORTER SMANJENE FUNKCIJE
- SEROTONIN
- TRAMADOL
- METABOLIT TRAMADOLA

Slika: Sažeti prikaz utjecaja farmakogenetičkih parametara na metaboličke puteve i ciljna mjesta djelovanja escitaloprama i tramadola te njihovih aktivnih metabolita demetilcitaloprama i desvenlafaksina u pacijenta 3

Obzirom na postojeće smjernice, prilagodba doze kod pacijenta 1 koji je IM za CYP2D6 i CYP2C19 iznosila bi 70-60 % standardne doze za escitalopram te zamjena tramadola drugim analgetikom koji ne podliježe metabolizmu putem CYP2D6. Pacijent 3, spori metabolizator CYP2C19, trebao bi primiti 60 % standardne doze escitaloprama. Jednaka preporuka diskontinuiteta terapije tramadolom kao i pacijentu 1 također zbog metaboličkog profila UGT2B7 (spori metabolizator).

4.8.2. Venlafaksin



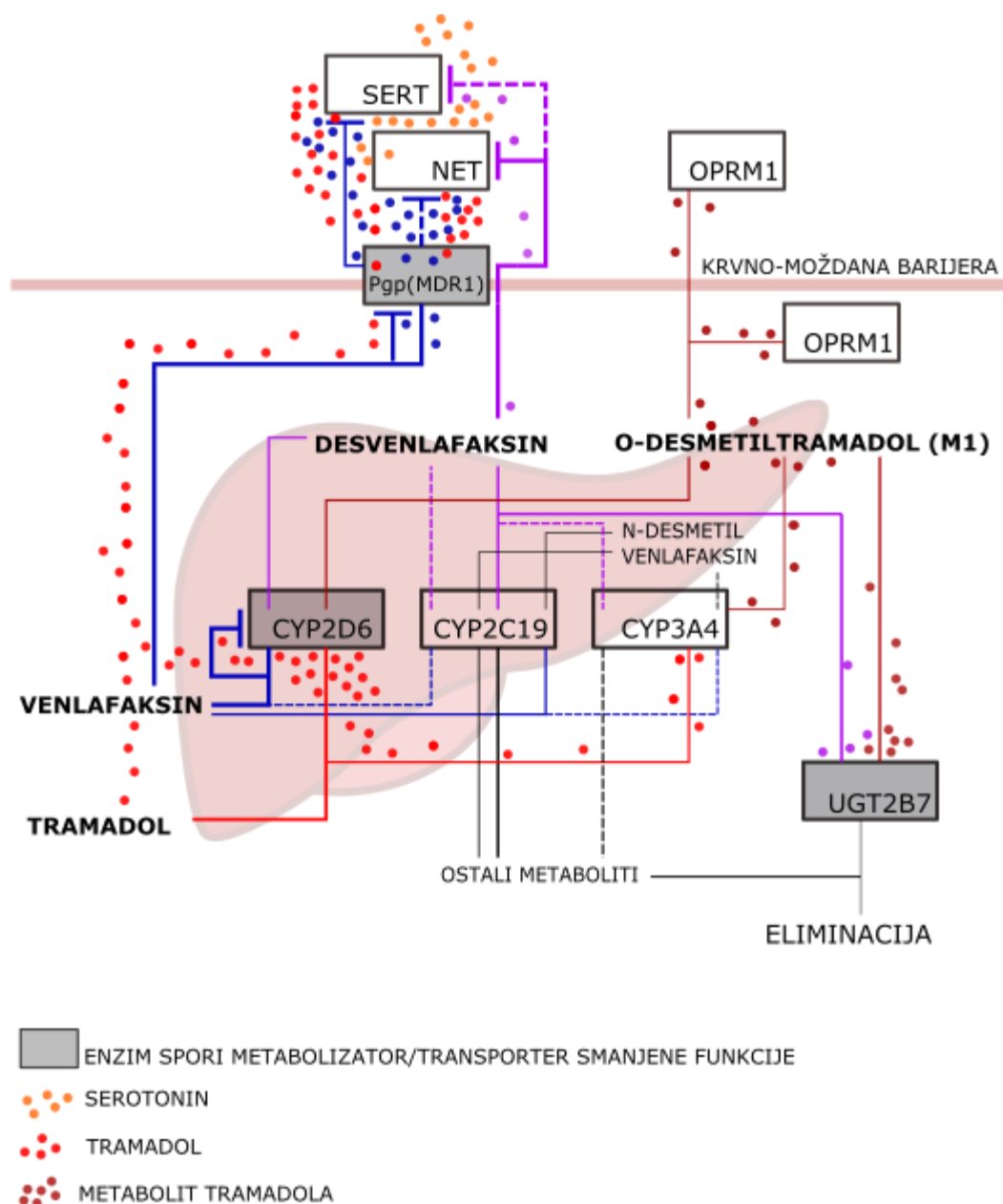
Slika: Sažeti prikaz metaboličkih puteva i ciljnog mjesta venlafaksina te njegovih metabolita (aktivni metabolit: desvenlafaksin)

Venlafaksin je inhibitor ponovne pohrane serotonina i noradrenalina, djeluje na SERT i NET, a osim što se koristi u terapiji depresivnih poremećaja danas se često koristi u terapiji neuralgija različitih etiologija.

U hepatocitima biva transformiran putem CYP2D6 do ekvipotentnog metabolita, O-desmetilvenlafaksina (desvenlafaksin), što čini glavni metabolički put ovog lijeka. Važno je napomenuti da je isti ujedno i inhibitor ovog enzima te će lako stupiti u interakcije s lijekovima istog metaboličkog puta. U mnogo manjoj mjeri se odvija biotransformacija do N-desmetilvenlafaksina enzimima CYP2C19 i CYP3A4 koji ujedno vode i k stvaranju N,O-didesmetilvenlafaksina od oba prethodno spomenuta metabolita. Konačno, metaboliti stupaju u reakcije glukuronidacije te se eliminiraju uglavnom urinom. Osim što je polimorfizam CYP2D6 iznimno važan za djelovanje ovog lijeka, utjecaj ima i P-gp koji mehanizmom

izbacivanja utječe na prolaz venlafaksina kroz KMB. Zanimljivo, čini se da desvenlafaksin ne podliježe njegovom utjecaju te slobodno prolazi KMB.

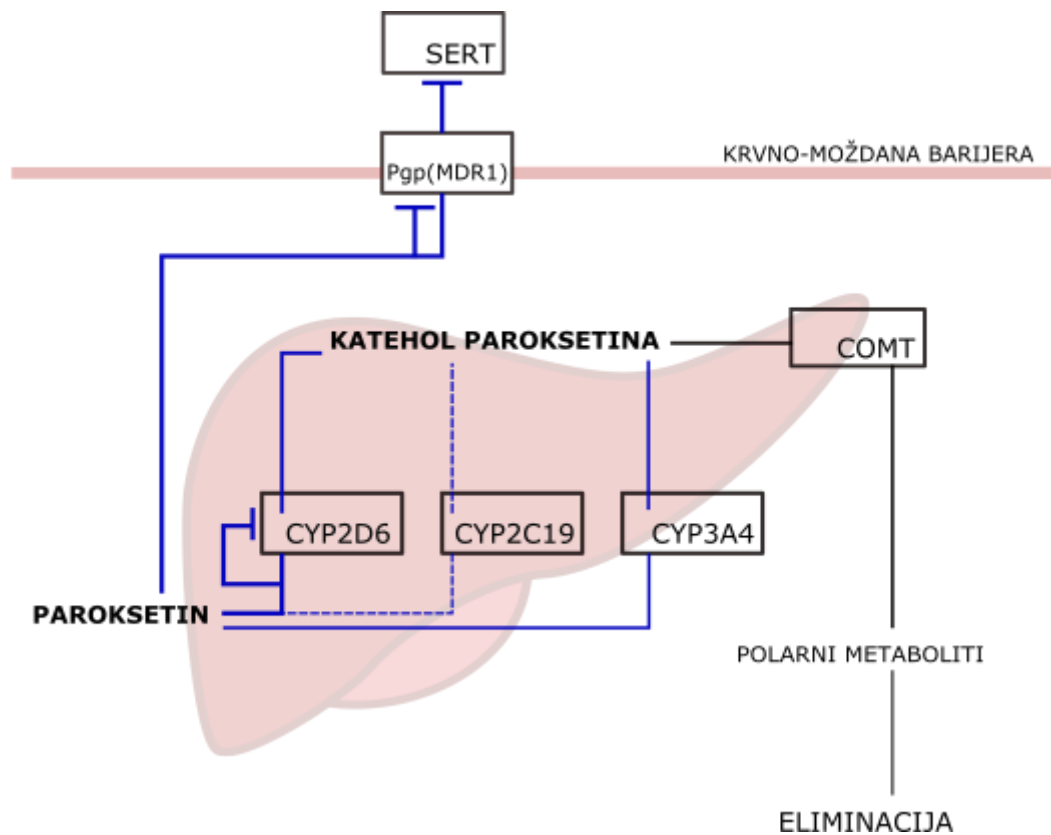
Promotre li se farmakogenetički parametri pacijenta 2 odmah se uočavaju potencijalna mjesta interakcija venlafaksina i tramadola. Za početak, zbog inaktivnog CYP2D6- što zbog nefunkcionalnih alela, što zbog inhibicije venlafaksinom, u organizmu ovog pacijenta dolazi do povišenja koncentracija venlafaksina i tramadola. Zbog potonjeg željena analgezija teško će biti postignuta a djelovanje na serotoninški sustav izraženo jer oba lijeka snažno inhibiraju serotoninški transporter. Tome će svakako pridonijeti i nefunkcionalni P-gp koji će „dopustiti“ neometani prijelaz ovih lijekova kroz KMB. SERT ima manje funkcionalni i jedan nefunkcionalni alel, što mu ipak omogućava aktivnost, ali smanjenu. Također potrebno je spomenuti i UGT2B7 koji je praktički inaktivan te dovodi do nakupljanja metabolita tramadola i venlafaksina čime pridonosi potencijalno toksičnom djelovanju koje može biti izraženije za M1 (metabolit tramadola) na mi opioidnim receptorima, budući da mu se produljuje poluvrijeme izlučivanja.



Slika: Sažeti prikaz utjecaja farmakogenetičkih parametara na metaboličke puteve i ciljna mjesta djelovanja venlafaksina i tramadola te njihovih aktivnih metabolita O-desmetiltramadola i desvenlafaksina

Pacijentu 2, s obzirom na spori metabolizam putem CYP2D6, preporučuje se primjena 30 % prosječne doze venlafaksina, ukidanje primjene tramadola i zamjena nekim primjerenijim analgetikom.

4.8.3. Paroksetin



Slika: Sažeti prikaz metaboličkih puteva i ciljnog mjesta paroksetina te njegovih metabolita (nema aktivnih metabolita)

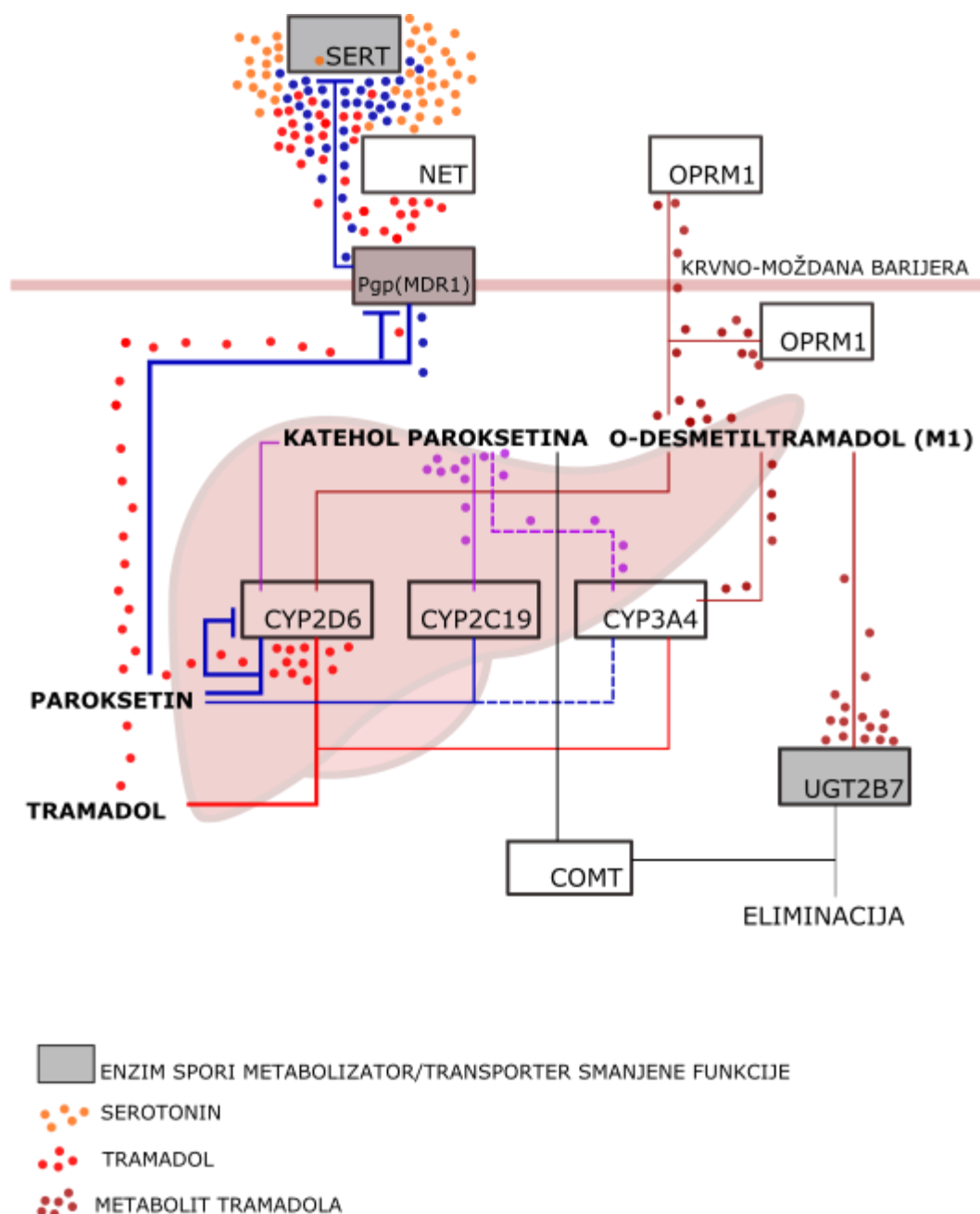
Paroksetin, baš kao i escitalopram, još je jedan selektivni inhibitor ponovne pohrane serotonina (SSRI) te se ujedno smatra i najjačim inhibitorom (Hiemke i sur., 2000) iz te porodice lijekova. Indiciran je kod depresivnih, anksioznih, opsesivno- kompulzivnih te srodnih poremećaja. Vrlo dobro se apsorbira iz gastrointestinalnog trakta a zbog svog izrazito lipofilnog karaktera, ekstenzivno se distribuira u tkiva.

Paroksetin podliježe metabolizmu prve faze koji je djelomično saturabilan, putem CYP2D6, pritom generirajući inaktivne metabolite. Značajno je reći da paroksetin, baš kao i venlafaksin, snažno inhibira CYP2D6 što uzrokuje spomenutu saturabilnost ali i potencira lijek-lijek interakcije.

Glavni inaktivni metabolit koji nastaje je katehol paroksetina, a njegovu pretvorbu iz paroksetina također mogu katalizirati i CYP3A4, CYP1A2 te CYP2C19 iako u mnogo manjoj mjeri (CYP2D6 >> CYP3A4 > CYP1A2 > CYP2C19 > CYP3A5). Katehol se dalje metilira

putem katehol-o-metil transferaze do polarnih metabolita koji bivaju eliminirani urinom i fecesom. Kod terapijski relevantnih koncentracija vezanje paroksetina na proteine plazme iznosi 95 %, a ravotežna koncentracija se postiže nakon 7-14 dana primjene.

Uvidom u farmakogenetičku analizu pacijenta 4, razvidno je da je isti intermedijarni metabolizator za CYP2D6 a brzi metabolizator (EM) za CYP2C19 i CYP3A4. Obzirom da glavni metabolički put paroksetina ide putem CYP2D6, paroksetin je ujedno i inhibitor tog enzima, dolazi do smanjenja konverzije tramadola u M1 te do pomaka njegovog metabolizma putem CYP3A4 i generiranja inaktivnog N-desmetiltramadola (M2). Jasno je da ovakav ishod vodi do povišene koncentracije tramadola u odnosu na M1 te nedostatne analgezije. Paroksetin je također i inhibitor P-gp, što uz genetičku predispoziciju ovog pacijenta za inaktivni transporter vodi ka slobodnom prolazu serotonergičkih lijekova paroksetina i tramadola kroz KMB. Sve navedeno, zajedno sa inaktivnim serotoninskim transporterom uvjetovanim S/S alelima, aditivno djeluje na povišenje razine serotonina u SŽS-u i prekomjerne aktivnosti serotonergičnog sustava s posljedičnim nuspojavama i simptomima serotoninskog sindroma. Ovaj pacijent je također i spori metabolizator putem UGT2B7, što pridonosi produljenoj eliminaciji tramadola i posljedično njegovim toksičnim učincima.



Slika: Sažeti prikaz utjecaja farmakogenetičkih parametara na metaboličke puteve i ciljna mjesta djelovanja paroksetina i tramadola te aktivnog metabolita O-desmetiltramadola

Preporuka za prilagodbu doze paroksetina, obzirom na polimorfizam CYP2D6, ovisi o postignutoj saturabilnosti koncentracija ovog lijeka. Ukoliko se radi o početnoj primjeni paroksetina, sporim metabolizatorima (PM) CYP2D6 sugerira se primjena 20 % a ekstenzivnim metabolizatorima (EM) 130 % standardne doze. Ukoliko je postignuta saturacija, CYP2D6 PM trebali bi primiti 70 % a CYP2D6 EM 110 % standardne doze. U ovog pacijenta koji ipak ima jedan funkcionalni alel ovog enzima moglo bi se preporučiti

80 % doze paroksetina, a smanjenje ili pak ukidanje tramadola kao analgetika izbora (ili primjena kombiniranih formulacija s paracetamolom).

5. ZAKLJUČAK

Farmakogenetička ispitivanja polimorfizama u metaboličkim putovima tramadola i konkomitantno primijenjenih lijekova od velikog su značaja pri identifikaciji pacijenata s povećanim rizikom od razvoja nuspojava. Ispitivanja genotipa metaboličkih enzima citokrom P450 i farmakokinetičkih parametara lijekova ukazuju na to da su metabolički kapaciteti enzima i bioraspoloživost lijekova genetički modulirani. Od poznatih genetičkih polimorfizama u ovom su radu istraženi geni koji kodiraju CYP2D6, CYP2C19, CYP3A4, UGT2B7 i transportere MDR1 i SERT. Rezultati analiza potvrđuju njihov utjecaj na interakcije lijekova izražene u politerapiji tramadola i antidepresiva, u ovom slučaju escitaloprama, venlafaksina i paroksetina, te upozoravaju na rizik pojave neželjenih nuspojava. Genotipizacija transportera za neurotransmitore također doprinosi procjeni sklonosti prema određenim neurološkim stanjima. Osim kao na znak upozorenja, ovakav pristup može biti korišten i kao vodič za prilagodbu doze lijekova svakom pojedinačnom pacijentu, što bi uvelike pridonijelo učinkovitoj individualizaciji i racionalizaciji farmakoterapije obzirom na postojeću praksu istodobnog propisivanja tramadola i antidepresiva vanbolničkim pacijentima .

6. LITERATURA

Abadie D, Rousseau V, Logerot S, Cottin J, Montastruc JL, Montastruc F. Serotonin Syndrome: Analysis of Cases Registered in the French Pharmacovigilance Database. *J Clin Psychopharmacol*. 2015;35(4):382-8.

Aboukarr A, Giudice M. Interaction between Monoamine Oxidase B Inhibitors and Selective Serotonin Reuptake Inhibitors. *Can J Hosp Pharm*. 2018;71(3):196–207.

Ables A.Z., PharmD, Nagubilli R, MD, Spartanburg Family Medicine Residency Program, Spartanburg, South Carolina *Am Fam Physician*. 2010;81(9):1139-1142

Alderman J, Preskorn SH, Greenblatt DJ, et al. Desipramine pharmacokinetics when coadministered with paroxetine or sertraline in extensive metabolizers. *J Clin Psychopharmacol* 1997;17:284-291

Arafa MH, Atteia HH. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) are associated with long term tramadol treatment-induced oxidative damage and hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2018;346:37-44.

Arakawa R, Takano A, Halldin C. Serotonin and Norepinephrine Transporter Occupancy of Tramadol in Nonhuman Primate Using Positron Emission Tomography. *IntJ Neuropsychopharmacol*. 2019;22(1):53-56.

Baldo BA. Opioid analgesic drugs and serotonin toxicity (syndrome): mechanisms, animal models, and links to clinical effects. *Arch Toxicol*. 2018;92(8):2457-2473.

Baz, Heba & Mahmoud, Dina & Naser, SaraA & Rabie, Walaa & Fawzy, Nahla & El-Sissy, Ola & Magd, SamirA & Enaba, Dalia. (2018). Polymorphism of serotonin transporter gene (SLC6A4) and its relation to tramadol dependence. *Egyptian Journal of Psychiatry*. 39. 109. 10.4103/ejpsy.ejpsy_4_18.

Bekjarovski N, Chaparoska D, Radulovikj-Bekjarovska S. Seizures after use and abuse of tramadol. *Prilozi*. 2012;33(1):313-8

Bengtsson F. Therapeutic drug monitoring of psychotropic drugs. TDM "nouveau". *Ther Drug Monit* 2004;26(2):145-51.

Bleakley S. Identifying and reducing the risk of antipsychotic drug interactions. *Progress in Neurology and Psychiatry* 2012; 16(2): 20-24107.

Bozina N, Peles AM, Sagud M, Bilusic H, Jakovljevic M. Association study of paroxetine therapeutic response with SERT gene polymorphisms in patients with major depressive disorder. *World J Biol Psychiatry*. 2008;9(3):190-7.

Bravo, Lidia & Antonio Mico, Juan & Berrocoso, Esther. (2017). Discovery and development of tramadol for the treatment of pain. *Expert Opinion on Drug Discovery*.12. 1-11.10.1080/17460441.2017.1377697.

Breitenstein B, Scheuer S, Brückl TM, Meyer J, Ising M, Uhr M, Holsboer F.

Brunton L, Hilal-Dandan R, Knollmann B, Goodman & Gilman's: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 13th edition. New York, McGraw-Hill Education / Medical, 2017.

Cornett EM, Novitch M, Kaye AD, Kata V, Kaye AM. Medication-Induced Tardive Dyskinesia: A Review and Update. *Ochsner J*. 2017;17(2):162–174.

Breitenstein B, Scheuer S, Brückl TM, Meyer J, Ising M, Uhr M, Holsboer F. Association of ABCB1 gene variants, plasma antidepressant concentration, and treatment response: Results from a randomized clinical study. *J Psychiatr Res*. 2016;73:86-95.

Deneer VH, Guchelaar HJ. Pharmacogenetics: from bench to byte--an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;89(5):662-73.

Evans WE, McLeod L. Pharmacogenomics-Drug Disposition, Drug Targets, and Side Effects. *N Engl J Med* 2003;348(6):538-549

Fox MA, Jensen CL, Murphy DL. Tramadol and another atypical opioid meperidine have exaggerated serotonin syndrome behavioural effects, but decreased analgesic effects, in genetically deficient serotonin transporter (SERT) mice. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2009;12(8):1055–1065.

Frank C. Recognition and treatment of serotonin syndrome. *Can Fam Physician*. 2008;54(7):988–992.

- Ganoci L, Božina T, Mirošević Skvrce N, Lovrić M, Mas P, Božina N. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes: CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, and CYP3A5 in the Croatian population. *Drug Metab Pers Ther.* 2017;32(1):11-21
- Gong, L., Stamer, U. M., Tzvetkov, M. V., Altman, R. B., and Klein, T. E. (2014). PharmGKB summary: tramadol pathway. *Pharmacogenet.Genomics* 24, 374–380.
- Gray K, Adhikary SD, Janicki P. Pharmacogenomics of analgesics in anesthesia practice: A current update of literature. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.* 2018;34(2):155–160.
- Guengerich FP, Waterman MR, Egli M. Recent Structural Insights into Cytochrome P450 Function. *Trends Pharmacol Sci.* 2016;37(8):625–640.
- Guo MH, Monir RL, Wright A, Holland NP. Case of Serotonin Syndrome Initially Presenting as Diffuse Body Pain. *Am J Case Rep.* 2018;19:1227-1231.
- Hahn M.K., Mazei M., Flatter N., Shannon J.R., Blakely R.D., Robertson D. (2002) Familial Orthostatic Tachycardia due to Norepinephrine Transporter (SLC6A2) Deficiency. In: Nagatsu T., Nabeshima T., McCarty R., Goldstein D.S. (eds) Catecholamine Research. *Advances in Behavioral Biology*, vol 53. Springer, Boston, MA
- Hajj A, Halepian L, Osta NE, Chahine G, Kattan J, Rabbaa Khabbaz L. OPRM1 c.118A>G Polymorphism and Duration of Morphine Treatment Associated with Morphine Doses and Quality-of-Life in Palliative Cancer Pain Settings. *Int J Mol Sci.* 2017;18(4):669
- Hamadeh IS, Langaee TY, Dwivedi R, et al. Impact of CYP2D6 polymorphisms on clinical efficacy and tolerability of metoprolol tartrate. *Clin Pharmacol Ther.* 2014;96(2):175–181.
- Hiemke C, Härtter S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacol Ther.* 2000;85(1):11-28. Review. PubMed PMID: 10674711.
- Hoffelt C, Gross T. A review of significant pharmacokinetic drug interactions with antidepressants and their management. *Ment Health Clin [Internet].* 2016;6(1):35-41
- Hu LM, Dai DP, Hu GX, Yang JF, Xu RA, Yang LP, Qian JC, Ge RS, Cai JP. Genetic polymorphisms and novel allelic variants of CYP2C19 in the Chinese Han

population. *Pharmacogenomics*. 2012;13(14):1571-81

Jančova P, Šiller M (2012) Phase II Drug Metabolism,. U: Topics on Drug Metabolism, Paxton J (Ed.), InTech, New York, USA, 35-60.

Jingjing Yu, Ichiko D. Petrie, Rene H. Levy and Isabelle Ragueneau-Majlessi. Drug Metabolism and Disposition. 2018, dmd.118.084905;

Kelly KR, Pypendop BH, Christe KL. Pharmacokinetics of tramadol following intravenous and oral administration in male rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *J Vet Pharmacol Ther*. 2015;38(4):375–382.

Klepstad P, Fladvad T, Skorpen F, Bjordal K, Caraceni A, Dale O, et al. Influence from genetic variability on opioid use for cancer pain: A European genetic association study of 2294 cancer pain patients. *Pain*. 2011;152:1139–45.

Langae TY, Dwivedi R, et al. Impact of CYP2D6 polymorphisms on clinical efficacy and tolerability of metoprolol tartrate. *Clin Pharmacol Ther*. 2014;96(2):175–181.

Lassen, Dorte & Damkier, Per & Brøsen, Kim. (2015). The Pharmacogenetics of Tramadol. *Clinical pharmacokinetics*. 54. 10.1007/s40262-015-0268-0.

Lehtonen, Päivi ; Sten, Taina ; Aitio, Olli Martti Antero ; Kurkela, Mika ; Vuorensola, Katariina ; Finel, Moshe ; Kostianen, Risto. / Glucuronidation of racemic O-desmethyltramadol, the active metabolite of tramadol. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010 ; Vol. 41, No. 3/4. pp. 523-530.

Li J, Menard V, Benish RL, Jurevic RJ, Guillemette C, Stoneking M, Zimmerman PA, Mehlotra RK (2012) Worldwide variation in human drug-metabolism enzyme genes CYP2B6 and UGT2B7: implications for HIV/AIDS treatment. *Pharmacogenomics* 13: 555–570.

Liu Y-C, Wang W-S. Human mu-opioid receptor gene A118G polymorphism predicts the efficacy of tramadol/acetaminophen combination tablets (ultracet) in oxaliplatin-induced painful neuropathy. *Cancer*. 2012;118:1718–25

Maryland Poison Center: Antidote List, 2019, <https://mdpoison.com>, pristupljeno 17.3.2019.

McDonnell AM, Dang CH. Basic review of the cytochrome p450 system. *J Adv Pract Oncol.* 2013;4(4):263–268.

Mercer SL, Coop A. Opioid analgesics and P-glycoprotein efflux transporters: a potential systems-level contribution to analgesic tolerance. *Curr Top Med Chem.* 2011;11(9):1157–1164.

Milano G, Natta WM, Bello A, Martelli A, Mattioli F. Codeine Precipitating Serotonin Syndrome in a Patient in Therapy with Antidepressant and Triptan. *Clin Psychopharmacol Neurosci.* 2017;15(3):292–295.

Mills K.C. Serotonin syndrome. *Am. Fam. Physician.* 1995;52:1475–1482.

Mittino D, Mula M, Monaco F. Serotonin syndrome associated with tramadol-sertraline coadministration. *Clin Neuropharmacol.* 2004;27(3):150-1.

Murphy DL, Lerner A, Rudnick G, Lesch K-P. Serotonin transporter: Gene, Genetic Disorders, and Pharmacogenetics. *Mol Intervent* 2004;4(2):109-123.

Nelson EM, Philbrick AM. Avoiding serotonin syndrome: the nature of the interaction between tramadol and selective serotonin reuptake inhibitors. *Ann Pharmacother.* 2012;46(12):1712-6.

O'Brien SJ, Eisenberg JF, Miyamoto M, Hedges SB, Kumar S, Wilson DE, Menotti-Raymond M, Murphy WJ, Nash WG, Lyons LA, Menninger JC, Stanyon R, Wienberg J, Copeland NG, Jenkins NA, Gellin J, Yerle M, Andersson L, Womack J, Broad T, Postlethwait J, Serov O, Bailey E, James MR, Marshall Graves JA, et al. Genome maps 10. Comparative genomics. Mammalian radiations. Wall chart. *Science.* 1999;286(5439):463-78.

Orlova Y, Rizzoli P, Loder E. Association of Coprescription of Triptan Antimigraine Drugs and Selective Serotonin Reuptake Inhibitor or Selective Norepinephrine Reuptake Inhibitor Antidepressants With Serotonin Syndrome. *JAMA Neurol.* 2018;75(5):566–572.

Overholser BR, Foster DR. Opioid pharmacokinetic drug-drug interactions. *AmJ Manag Care*. 2011;17 Suppl 11:S276-87.

Palmer, Greta & J Anderson, Brian & Linscott, David & J Paech, Michael & Allegaert, Karel. (2018). Tramadol, breast feeding and safety in the newborn. *Archives of Disease in Childhood*. 103. [archdischild-2017. 10.1136/archdischild-2017-313786](https://doi.org/10.1136/archdischild-2017-313786).

Park SH, Wackernah RC, Stimmel GL. Serotonin syndrome: is it a reason to avoid the use of tramadol with antidepressants? *J Pharm Pract*. 2014;27(1):71-8.

Parmar S, Stingl JC, Huber-Wechselberger A, Kainz A, Renner W, Langsenlehner U, Krippel P, Brockmüller, Haschke-Becher E (2011) Impact of UGT2B7His268Tyr polymorphism on the outcome of adjuvant epirubicin treatment in breast cancer. *Breast Cancer Research* 13:R57

Peitl, V., Karlović, D., Štefanović, M. i Vrkić, N. (2015). Serotonin Transporter Polymorphism in Relation to Depression. *Alcoholism and psychiatry research*,51(2), 107-126.

Racz R, Soldatos TG, Jackson D, Burkhart K. Association Between Serotonin Syndrome and Second-Generation Antipsychotics via Pharmacological Target-Adverse Event Analysis. *Clin Transl Sci*. 2018;11(3):322–329.

Raffa RB, Buschmann H, Christoph T, Eichenbaum G, Englberger W, Flores CM, Hertrampf T, Kögel B, Schiene K, Straßburger W, Terlinden R, Tzschentke TM. Mechanistic and functional differentiation of tapentadol and tramadol. *Expert Opin Pharmacother*. 2012;13(10):1437-49.

Rendic S, DiCarlo FJ. Human Cytochrome P450 Enzymes:A Status Report Summarizing Their Reactions, Substrates,Inducers and Inhibitors. *Drug Metab Rev* 1997; 29:413- 580.

Rendic S. Summary of information on human CYP enzymes A. Human P450 Metabolism Data. *Drug Metab Rev* 2002; 34(1-2):83-488

Rendic SP, Peter Guengerich F. Human cytochrome P450 enzymes 5-51 as targets of drugs and natural and environmental compounds: mechanisms, induction, and inhibition - toxic effects and benefits. *Drug Metab Rev*. 2018;50(3):256–342.

Rickli A, Liakoni E, Hoener MC, Liechti ME. Opioid-induced inhibition of the human 5-HT and noradrenaline transporters in vitro: link to clinical reports of serotonin syndrome. *Br J Pharmacol*. 2018;175(3):532–543.

Rickli, Anna & Liakoni, Evangelia & Hoener, Marius & Liechti, Matthias. (2017). Opioid-induced inhibition of the human serotonin and norepinephrine transporters in vitro: link to clinical reports of serotonin syndrome. *British journal of pharmacology*. 175.10.1111/bph.14105.

Rongen GA, van Schaik RH, Schalekamp T, Touw DJ, van der Weide J, Wilffert B,

Rosebush P.I. Serotonin Syndrome-Mhaus. 2019, www.mhaus.org , pristupljeno 17.3.2019.

Ryan NM, Isbister GK. Tramadol overdose causes seizures and respiratory depression but serotonin toxicity appears unlikely. *Clin Toxicol (Phila)*. 2015;53(6):545-50.

Sasaki T, Sato Y, Kumagai T, Yoshinari K, Nagata K. Effect of health foods on cytochrome P450-mediated drug metabolism. *J Pharm Health Care Sci*. 2017;3:14. Published 2017 May 10.

Scott SA, Sangkuhl K, Stein CM, Hulot JS, Mega JL, Roden DM, Klein TE, Sabatine MS, Johnson JA, Shuldiner AR; Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 update. *Clin Pharmacol Ther*. 2013 ;94(3):317-23.

PharmGKB summary: very important pharmacogene information for cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19. *Pharmacogenet Genomics*. 2012;22(2):159-65

Shakoor M., Ayub S., Ahad A., Ayub Z. Transient serotonin syndrome caused by concurrent use of tramadol and selective serotonin reuptake inhibitor. *Am. J. Case Rep*. 2014;15:562–564

Shatin D, Gardner JS, Stergachis A, Blough D, Graham D. Impact of mailed warning to prescribers on the co-prescription of tramadol and antidepressants. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2005; 14:149-154

Shin, Jaekyu & A Johnson, Julie. (2007). Pharmacogenetics of β -Blockers. *Pharmacotherapy*. 27. 874-87. 10.1592/phco.27.6.874.

Slanar O, Dupal P, Matouskova O, Vondrackova H, Pafko P, Perlik F. Tramadol efficacy in patients with postoperative pain in relation to CYP2D6 and MDR1 polymorphisms. *Bratisl Lek Listy*. 2012; 113(3):152-5

Slanar O, Nobilis M, Kvetina J, Matouskova O, Idle J.R, Perlik F., Pharmacokinetics of tramadol is affected by MDR1 polymorphism C3435T, *Eur J Clin Pharmacol*. 63 (2007) 419-21

Stavropoulou E, Pircalabioru GG, Bezirtzoglou E. The Role of Cytochromes P450 in Infection. *Front Immunol*. 2018;9:89.

Steimer W, Zopf K, Von Amelunxen S, Pfeiffer H, Bachofer J, Popp J et al. Allele – specific change of concentration and functional gene dose for the prediction of steady-state serum concentrations of amitriptyline and nortriptyline in CYP2C19 and CYP2D6 extensive and intermediate metabolizers. *Clin Chem* 2004;50:1623-33

Subedi M, Bajaj S, Kumar MS, Yc M. An overview of tramadol and its usage in pain management and future perspective. *Biomed Pharmacother*. 2019;111:443-451.

Swen JJ, Nijenhuis M, de Boer A, Grandia L, Maitland-van der Zee AH, Mulder H, Rongen GA, van Schaik RH, Schalekamp T, Touw DJ, van der Weide J, Wilffert B, Deneer VH, Guchelaar HJ. Pharmacogenetics: from bench to byte-an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;89(5):662-73

Tanaka E., Hisawa S. Clinically significant pharmacokinetic drug interactions with psychoactive drugs: antidepressants and antipsychotics and the cytochrome P450 system. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* 1999; 24: 7-16

Torres GE, Gainetdinov RR, Caron MG (January 2003). "Plasma membrane monoamine transporters: structure, regulation and function". *Nature Reviews. Neuroscience*. 4 (1): 13–25.

Touw DJ. Clinical implications of genetic polymorphisms and drug interactions mediated by cytochrome P-450 enzymes. *Drug Metabol Drug Interact* 1997;14:55-82

Tzvetkov MV, Saadatmand AR, Lötsch J, Tegeder I, Stingl JC, Brockmöller J. Genetically polymorphic OCT1: another piece in the puzzle of the variable pharmacokinetics and pharmacodynamics of the opioidergic drug tramadol. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;90(1) 143-150.

Van Asperen J, van Tellingen O, Beijnen JH. The pharmacological role of P-glycoprotein in the intestinal epithelium. *Pharmacol Res* 1998;37:429-435.

Vazzana M, Andreani T, Fangueiro J, Faggio C, Silva C, Santini A, Garcia ML, Silva AM, Souto EB. Tramadol hydrochloride: pharmacokinetics, pharmacodynamics, adverse side effects, co-administration of drugs and new drug delivery systems. *Biomed Pharmacother.* 2015;70:234-8.

Vickers MD. The efficacy of tramadol hydrochloride in the treatment of postoperative pain. *Rev Contemp Pharmacother* 1995;6:499 506

Vijayan R, Afshan G, Bashir K, et al. Tramadol: a valuable treatment for pain in Southeast Asian countries. *J Pain Res.* 2018;11:2567–2575.

Volpi-Abadie J, Kaye AM, Kaye AD. Serotonin syndrome. *Ochsner J.* 2013;13(4):533–540

Wang, P., Lin, XQ., Cai, WK. et al. *Eur J Clin Pharmacol* (2018) 74: 433.

Yang, Wenjian & Wu, Gang & Broeckel, Ulrich & A Smith, Colton & Turner, Victoria & Haidar, Cyrine & Wang, Shuoguo & Carter, Robert & Karol, Seth & Neale, Geoffrey & Crews, Kristine & J Yang, Jun & Mullighan, Charles & R Downing, James & Evans, William & Relling, Mary. Comparison of genome sequencing and clinical genotyping for pharmacogenes. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2016, 100. 10.1002/cpt.411.

Yannick Parmentier, Corinne Pothier, Nicola Hewitt, Ludwig Vincent, Fabrice Caradec, Jia Liu, Feifei Lin, Marie-Michèle Trancart, Fabrice Guillet, Belkacem Bouaita, Christophe Chesne & Bernard Walther: Direct and quantitative evaluation of the major human CYP contribution (fmCYP) to drug clearance using the *in vitro* Silensomes™ model, *Xenobiotica*, 2019;49:1, 22-35

Yarramalle SP, Munta K, Rao SM, Venkategowda PM, Sunka S, Dudam SK. Comparison of Analgesic Efficacy of Tramadol Infusion Versus Tramadol Plus Ondansetron Infusion In Medical Intensive Care Unit. *Indian J Crit Care Med.* 2018;22(5):353–356.

Yoshida K, Ito K, Takahashi H et al. Influence of the serotonin transporter gene-linked polymorphic region on the antidepressant response to fluvoxamine in Japanese depressed patient. *Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2002;158:383-386

Zhou S-F. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part I. *Clin Pharmacokinet.* 2009;48:689–723.

7. SAŽETAK/SUMMARY

Farmakogenetika je znanstvena disciplina koja proučava utjecaja individualnih razlika u slijedu DNA na učinkovitost i toksičnost farmakoterapije. Najčešće ispituje varijante gena koji kodiraju enzime uključene u metabolizam i prijenos lijeka preko različitih membrana. Cilj je rada ukazati na moguću važnost farmakogenetičke analize kao korisnog alata u svakodnevnoj kliničkoj praksi za optimalnu prilagodbu doziranja lijekova čija primjena može rezultirati razvojem serotoninskog sindroma. Ovim su radom prikazani enzimi i transporteri ključni za metaboličke puteve tramadola i čestih konkomitantno primijenjenih antidepresiva. Opisani su mogući patogenetski mehanizmi nastanka serotoninskog sindroma kao posljedica farmakogenetičke predispozicije te interakcija lijekova. Također su opisani i geni koji kodiraju enzime CYP2D6, CYP2C19, CYP3A4, UGT2B7 i transportere P-glikoprotein (P-gp/MDR1/ABCB1) i SERT. Na primjerima opisa slučajeva iz kliničke prakse prikazani su mogući mehanizmi interakcija lijek-lijek-gen. Rezultati analiza upućuju na utjecaj farmakogena u moduliranju interakcija konkomitantno primijenjenog tramadola i antidepresiva, u ovom slučaju escitaloprama, venlafaksina i paroksetina, koje su rezultirale razvojem serotoninskog sindroma. U zaključku treba istaknuti da bi provedba genotipizacije relevantnih gena metaboličkih enzima i transportera važnih u farmakokinetici tramadola i antidepresiva mogla značajno pridonijeti individualiziranom pristupu u primjeni navedenih lijekova te minimalizaciji rizika razvoja štetnih učinaka uključujući serotoninski sindrom. U širem kontekstu ovaj rad ukazuje na potencijal farmakogenetike u personaliziranom pristupu svakom pacijentu radi postizanja željenih terapijskih ishoda, smanjenja nastanka nuspojava, te poboljšanja opće kvalitete zdravstvene skrbi.

Pharmacogenetics is a science discipline that studies impacts of interindividual differences in DNA on pharmacotherapy efficacy and toxicity. Most frequently examined are gene variants encoding enzymes responsible for drug metabolism and transmembrane transport. The aim of this paper is to showcase the potential of pharmacogenetic analysis as an useful tool for timely dosing adjustment of medications, containing a high risk of serotonin syndrome development, in every day clinical praxis.

This paper takes into account drug metabolizing enzymes and drug transporters of tramadol pathway and concomitantly prescribed antidepressants. Showcased are hypothetical pathogenetic mechanisms of serotonin syndrome development as a result of pharmacogenetic predisposition and drug interactions. Genes coding for CYP2D6, CYP2C19, CYP3A4, UGT2B7, MDR1 and SERT are characterized. Clinical case examples were used to describe potential mechanisms of drug-drug-gene interactions. The results of pharmacogenetic analysis confirmed that pharmacogenes have an impact on tramadol-antidepressant polytherapy modulation, in this case escitalopram, venlafaxine and paroxetine, causing serotonin syndrome development. In conclusion, genotyping genes coding for important metabolic enzymes and transporters of tramadol-antidepressant pharmacokinetics could significantly contribute to individual approach in administration of these drugs and minimize risks of adverse effects incidents, including serotonin syndrome. In a broader context, this paper presents potential of pharmacogenetics in personalized approach to every patient in terms of achieving optimal therapy results, avoiding side effects and improving health care quality.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu

Diplomski rad

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Studij: Farmacija

Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju

Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

FARMAKOGENETIKA TRAMADOLA I INDIVIDUALIZACIJA TERAPIJE

Karolina Miljak

SAŽETAK

Farmakogenetika je znanstvena disciplina koja proučava utjecaja individualnih razlika u slijedu DNA na učinkovitost i toksičnost farmakoterapije. Najčešće ispituje varijante gena koji kodiraju enzime uključene u metabolizam i prijenos lijeka preko različitih membrana. Cilj je rada ukazati na moguću važnost farmakogenetičke analize kao korisnog alata u svakodnevnoj kliničkoj praksi za optimalnu prilagodbu doziranja lijekova čija primjena može rezultirati razvojem serotoninskog sindroma. Ovim su radom prikazani enzimi i transporteri ključni za metaboličke puteve tramadola i čestih konkomitantno primijenjenih antidepresiva. Opisani su mogući patogenetski mehanizmi nastanka serotoninskog sindroma kao posljedica farmakogenetičke predispozicije te interakcija lijekova. Također su opisani i geni koji kodiraju enzime CYP2D6, CYP2C19, CYP3A4, UGT2B7 i transportere P-glikoprotein (P-gp/MDR1/ABCB1) i SERT. Na primjerima opisa slučajeva iz kliničke prakse prikazani su mogući mehanizmi interakcija lijek-lijek-gen. Rezultati analiza upućuju na utjecaj farmakogena u moduliranju interakcija konkomitantno primijenjenog tramadola i antidepresiva, u ovom slučaju escitaloprama, venlafaksina i paroksetina, koje su rezultirale razvojem serotoninskog sindroma. U zaključku treba istaknuti da bi provedba genotipizacije relevantnih gena metaboličkih enzima i transportera važnih u farmakokinetici tramadola i antidepresiva mogla značajno pridonijeti individualiziranom pristupu u primjeni navedenih lijekova te minimalizaciji rizika razvoja štetnih učinaka uključujući serotoninski sindrom.

U širem kontekstu ovaj rad ukazuje na potencijal farmakogenetike u personaliziranom pristupu svakom pacijentu radi postizanja željenih terapijskih ishoda, smanjenja nastanka nuspojava, te poboljšanja opće kvalitete zdravstvene skrbi.

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

Rad sadrži: 56 stranica, 18 grafičkih prikaza, 12 tablica i 95 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Farmakogenetika, farmakogenetska analiza, polimorfizmi, tramadol, antidepresivi, serotoninski sindrom, liječenje, personalizirana terapija

Mentor: **Dr. sc. Karmela Barišić**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ko-mentor: **Dr. sc. Nada Božina**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Medicinskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Karmela Barišić**, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Nada Božina, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Medicinskog fakulteta.*

Dr. sc. Vesna Bačić-Vrca, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujan 2019.

Basic documentation card

University of Zagreb

Diploma thesis

Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Study: Pharmacy

Department of Medical Biochemistry and Haematology

Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

THE PHARMACOGENETICS OF TRAMADOL AND THERAPY INDIVIDUALIZATION

Karolina Miljak

SUMMARY

Pharmacogenetics is a science discipline that studies impacts of interindividual differences in DNA on pharmacotherapy efficacy and toxicity. Most frequently examined are gene variants encoding enzymes responsible for drug metabolism and transmembrane transport. The aim of this paper is to showcase the potential of pharmacogenetic analysis as an useful tool for timely dosing adjustment of medications, containing a high risk of serotonin syndrome development, in every day clinical praxis.

This paper takes into account drug metabolizing enzymes and drug transporters of tramadol pathway and concomitantly prescribed antidepressants. Showcased are hypothetical pathogenetic mechanisms of serotonin syndrome development as a result of pharmacogenetic predisposition and drug interactions. Genes coding for CYP2D6, CYP2C19, CYP3A4, UGT2B7, MDR1 and SERT are characterized. Clinical case examples were used to describe potential mechanisms of drug-drug-gene interactions. The results of pharmacogenetic analysis confirmed that pharmacogenes have an impact on tramadol-antidepressant polytherapy modulation, in this case escitalopram, venlafaxine and paroxetine, causing serotonin syndrome development. In conclusion, genotyping genes coding for important metabolic enzymes and transporters of tramadol-antidepressant pharmacokinetics could significantly contribute to individual approach in administration of these drugs and minimize risks of adverse effects incidents, including serotonin syndrome. In a broader context, this paper presents potential of pharmacogenetics in personalized approach to every patient in terms of achieving optimal therapy results, avoiding side effects and improving health care quality.

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

Thesis includes: 56 pages, 18 figures, 12 tables and 95 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Pharmacogenetics, pharmacogenetic analysis, polymorphisms, tramadol, antidepressants, serotonin syndrome, medical therapy, personalized therapy

Mentor: **Karmela Barišić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Co-mentor: **Nada Božina, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Medicine

Reviewers: **Karmela Barišić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Nada Božina, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Medicine

Vesna Bačić-Vrca, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2019.

