

# Odabir odgovarajuće doze takrolimusa u personaliziranom pristupu liječenja bolesnika s transplantiranim srcem

---

Kerner, Nives

Postgraduate specialist thesis / Završni specijalistički

2024

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:163:223678>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-10**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Nives Kerner

ODABIR ODGOVARAJUĆE DOZE TAKROLIMUSA U  
PERSONALIZIRANOM PRISTUPU LIJEČENJA BOLESNIKA S  
TRANSPLANTIRANIM SRCEM

Specijalistički rad

Zagreb, 2024.

PSS studij: Klinička farmacija

Mentori rada: izv. prof. dr. sc. Nada Božina, dr. med. i doc. dr. sc. Jure Samardžić, dr. med.

Specijalistički rad obranjen je dana 28.08.2024. na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Sveučilišta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. Karmela Barišić
2. izv. prof. dr. sc. Nada Božina
3. dr. sc. Vesna Bačić Vrca, red. prof. u mir.

Rad ima 82 lista.

## PREDGOVOR

Specijalistički rad prijavljen je u okviru Poslijediplomskog specijalističkog studija Klinička farmacija Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Rad je izrađen u Kliničkom bolničkom centru Zagreb (Klinika za bolesti srca i krvnih žila i Odjel za farmakogenomiku i individualizaciju terapije) pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Nade Božine uz komentora doc. dr. sc. Juru Samardžića.

*Zahvaljujem na ukazanom povjerenju pri odabiru teme, prenesenom znanju i stručnom vodstvu prilikom izrade ovog rada koje su mi pružili mentorica izv. prof. dr. sc. Nada Božina i mentor doc. dr. sc. Jure Samardžić. Također zahvaljujem kolegici spec. klin. pharm. Emiliji Katarini Lozo na korisnim savjetima i svojoj obitelji na podršci.*

## SAŽETAK

### **Cilj istraživanja**

Cilj ovog rada je izložiti i dokumentirati najvažnije spoznaje o učinkovitoj i sigurnoj primjeni takrolimusa kod bolesnika nakon transplantacije srca te opisati najnovije smjernice i preporuke stručnih društava. Uz pomoć prikaza kliničkog slučaja cilj je detaljno objasniti interpretaciju farmakogenetičkog nalaza te implementaciju opisanih smjernica za doziranje takrolimusa. Hipoteza je da relevantna dosadašnja publicirana medicinska literatura ukazuje na važnost i klinički značaj farmakogenetičkog profila najbitnijih enzima citokroma P450 (CYP) i transportera ABC koji su uključeni u metabolizam imunosupresiva, što može zahtijevati drugačiji pristup u doziranju kako bi se postigao željeni klinički odgovor.

### **Materijali i metode**

Metodologija pisanja ovog rada je dominantno zasnovana na prikupljanju podataka i pretraživanju dostupne relevantne literature, koju su činili članci iz stručnih i znanstvenih časopisa, udžbenika te smjernica različitih stručnih društava. Pretraživana je bibliografska baza podataka (PubMed) te baza podataka sintetiziranog znanja (PharmGKB) s pomoću jedne ili kombinacije sljedećih ključnih riječi: transplantacija srca, imunosupresivna terapija, takrolimus, ciklosporin, mikofenolat mofetil, everolimus, farmakogenetika, farmakogenomika, CYP3A4, CYP3A5, polimorfizam, interakcije lijekova, farmakoekonomika. U pregledu literature, fokus je bio na literaturi objavljenoj u razdoblju od 2010. do 2024., uz nekoliko iznimki koje uključuju pionirska istraživanja i studije na teme koje nisu bile često obrađivane u tom periodu. U svrhu prikaza slučaja bolesnika, podatci o bolesniku su uzeti iz njegove povijesti bolesti i bolničkog informacijskog sustava (BIS) Klinike za bolesti srca i krvnih žila KBC-a Zagreb.

### **Rezultati**

Predstavljeni su najčešće korišteni lijekovi za postizanje imunosupresije nakon transplantacije srca te njihov sigurnosni profil i ciljne koncentracije. Opisana je uporaba terapijskog praćenja lijekova (engl. *therapeutic drug monitoring*, TDM) u svrhu lakšeg postizanja ciljnih koncentracija takrolimusa. Sustavnim pregledom navedene literature postavljena je poveznica između polimorfizama gena koji kodiraju najbitnije enzime uključene u metabolizam imunosupresivnih lijekova. Raspravljeno je pitanje zamjene TDM-a s rutinskim farmakogenetičkim testiranjem za gene neophodne u metabolizmu takrolimusa kako bi se

omogućilo brže titriranje takrolimusa. Također, prikazano je podvojeno mišljenje različitih stručnih društava o potrebi rutinskog farmakogenetičkog testiranja prije uvođenja takrolimusa u terapiju. Nadalje, predstavljene su smjernice stručnih društava o doziranju takrolimusa prema fenotipu bolesnika u svrhu postizanja optimalnog kliničkog odgovara. Opisana je dostupnost informacija iz područja farmakogenetike te su predstavljeni trenutni problemi što se tiče rutinske integracije farmakogenetike u zdravstveni sustav uz rješenja za neke od tih problema. Implementacija spoznaja o kojima se raspravljalo u radu u kliničku praksu je prikazana uz pomoć opisa kliničkog slučaja bolesnika.

### **Zaključak**

U daljnjem razvoju personalizirane medicine potrebno je raditi na studijama koje će omogućiti uvid u isplativost rutinskog farmakogenetičkog testiranja za sve bolesnike, imajući na umu posebnu korist za pojedinog bolesnika koja proizlazi iz sprječavanja pojavnosti nuspojava, nedjelotvornosti lijeka ili drugih komplikacija liječenja. Farmakogenetičko testiranje daje korisne informacije za doziranje lijeka i potrebi praćenja koncentracija. S obzirom na to da se većina lijekova metabolizira putem enzima natporodice citokroma P450, porodica 3, potporodica A, (engl. *Cytochrome P450 Family 3 Subfamily A, CYP3A*) svrha farmakogenetičkog nalaza koji trajno ostaje u medicinskoj dokumentaciji bolesnika dobiva na važnosti. Međutim, farmakogenetičko testiranje je samo jedan od alata u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Suradnja multidisciplinarnog tima, s bolesnikom u središtu, može poboljšati ishode liječenja, smanjiti troškove zdravstvene skrbi i omogućiti bolju kvalitetu života.

## SUMMARY

### **Objectives**

This paper aimed to present and document the most important insights into the effective and safe application of tacrolimus in patients after heart transplantation and to describe the latest professional societies' guidelines and recommendations. Using a clinical case presentation, the goal was to explain in detail the interpretation of pharmacogenetic findings and the implementation of described dosing guidelines for tacrolimus. The hypothesis was that relevant published medical literature indicates the importance and clinical significance of the pharmacogenetic profile of key cytochrome P450 (CYP) enzymes and ABC transporters involved in immunosuppressant metabolism, which may require a different dosing approach to achieve the desired clinical response.

### **Materials/Patients and Methods**

The methodology of this paper was predominantly based on data collection and the search of available relevant literature, including articles from professional and scientific journals, textbooks and guidelines from various professional societies. Databases such as PubMed and the knowledge synthesis database PharmGKB were searched using one or a combination of the following keywords: heart transplantation, immunosuppressive therapy, tacrolimus, cyclosporine, mycophenolate mofetil, everolimus, pharmacogenetics, pharmacogenomics, CYP3A4, CYP3A5, polymorphism, drug interactions, pharmacoeconomics. In the literature review, the focus was on literature published between 2010 and 2024, with a few exceptions that include pioneering research and studies on topics that have not been frequently addressed during this period. To present a patient case, data was taken from the patient's medical history and the hospital information system (BIS) of the Department for Cardiovascular Diseases, University Hospital Centre Zagreb.

### **Results**

The most commonly used drugs for achieving immunosuppression after heart transplantation, their safety profiles and target concentrations were presented. The use of therapeutic drug monitoring (TDM) to facilitate achieving target tacrolimus concentrations was described. A systematic review of the literature established a link between gene polymorphisms encoding key enzymes involved in the metabolism of immunosuppressive drugs. The issue of replacing TDM with routine pharmacogenetic testing for genes essential in tacrolimus

metabolism to enable faster titration of tacrolimus was discussed. Furthermore, the divided opinions of various professional societies on the need for routine pharmacogenetic testing before introducing tacrolimus therapy were presented. Guidelines from professional societies on tacrolimus dosing according to the patient phenotype to achieve optimal clinical response were outlined. The availability of information in the field of pharmacogenetics and current problems concerning the routine integration of pharmacogenetics into healthcare systems were described, along with solutions for some of these problems. The implementation of the theory discussed in the paper in practice was illustrated using a patient case.

## **Conclusion**

In the further development of personalized medicine, it is necessary to conduct studies that will provide insight into the cost-effectiveness of routine pharmacogenetic testing for all patients, considering the specific benefits for individual patients that arise from preventing the occurrence of side effects, drug inefficacy or other treatment complications. Pharmacogenetic testing provides a lot of useful information about drug dosing and the need for their monitoring. Given that most drugs are metabolized by cytochrome P450 family 3 subfamily A (CYP3A) enzymes, the purpose of the pharmacogenetic findings, which remain permanently in the patient's medical records, gains significance. However, pharmacogenetic testing is only one of the tools in everyday clinical practice. Collaboration within a multidisciplinary team, with the patient in the center, can improve treatment outcomes, reduce healthcare costs and enable better quality of life.



## SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA.....	1
1.1. Transplantacija srca.....	1
1.1.1. Indikacije za transplantaciju srca.....	1
1.1.2. Kontraindikacije za transplantaciju srca.....	2
1.1.3. Komplikacije nakon transplantacije srca.....	3
1.1.3.1. Stanično odbacivanje presatka.....	3
1.1.3.2. Humoralno odbacivanje presatka.....	4
1.2. Postoperativno praćenje bolesnika.....	5
1.3. Postoperativna terapija.....	7
1.4. Personalizirana medicina.....	8
1.5. Farmakogenetika i farmakogenomika.....	9
1.6. Terapijsko praćenje lijekova.....	11
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	12
3. MATERIJALI I METODE.....	13
4. REZULTATI.....	14
4.1. Imunosupresivna terapija.....	14
4.2. Inhibitori kalcineurina.....	17
4.2.1. Mehanizam djelovanja.....	17
4.2.2. Indikacije i kontraindikacije.....	19
4.2.3. Farmakokinetika.....	19
4.2.4. Nuspojave.....	22
4.2.5. Praćenje bolesnika na terapiji kalcineurinskim inhibitorima.....	22
4.3. Mikofenolat mofetil.....	24
4.3.1. Mehanizam djelovanja.....	24

4.3.2. Indikacije i kontraindikacije.....	24
4.3.3. Farmakokinetika.....	24
4.3.4. Nuspojave.....	26
4.3.5. Praćenje bolesnika na terapiji mikofenolat mofetilom.....	26
4.4. Everolimus.....	26
4.4.1. Mehanizam djelovanja.....	26
4.4.2. Indikacije i kontraindikacije.....	27
4.4.3. Farmakokinetika.....	27
4.4.4. Nuspojave.....	27
4.4.5. Praćenje bolesnika na terapiji everolimusom.....	28
4.5. Glukokortikoidi .....	28
4.5.1. Mehanizam djelovanja.....	28
4.5.2. Indikacije i kontraindikacije.....	29
4.5.3. Farmakokinetika.....	29
4.5.4. Nuspojave.....	30
4.6. Interakcije imunosupresivnih lijekova.....	30
4.7. Terapijsko praćenje imunosupresiva.....	31
4.8. Ciljne koncentracije imunosupresiva.....	33
4.9. Dostupnost informacija iz područja farmakogenetike.....	35
4.10. Farmakogenomika takrolimusa.....	36
4.11. Smjernice za doziranje takrolimusa.....	37
4.11.1. Smjernice Konzorcija za implementaciju kliničke farmakogenetike (CPIC) za doziranje takrolimusa.....	38
4.11.2. Smjernice Francuske nacionalne mreže farmakogenetike (RNPGx) za doziranje takrolimusa.....	40

4.11.3. Smjernice Nizozemske radne skupine za farmakogenetiku (DPWG) za doziranje takrolimusa.....	40
4.12. Uporaba diltiazema u svrhu smanjenja doze takrolimusa.....	40
4.13. Prikaz kliničkog slučaja.....	41
4.13.1. Anamneza bolesnika.....	41
4.13.2. Postoperativni period.....	42
4.13.3. Nalaz farmakogenetičke analize i preporuke doziranja prema genotipu i fenotipu bolesnika.....	44
4.13.4. Izazovi u odabiru odgovarajuće doze takrolimusa.....	45
5. RASPRAVA.....	48
5.1. Pregled i učestalost polimorfizama <i>CYP3A</i> .....	48
5.2. Razvoj farmakogenetike u modernoj medicini.....	49
5.3. Izazovi i rješenja implementacije rutinskog farmakogenetičkog testiranja.....	50
5.4. Smjernice za rutinsko farmakogenetičko testiranje prije početka terapije takrolimusom.....	51
6. ZAKLJUČAK.....	53
7. LITERATURA I POPIS KRATICA.....	56

# 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

## 1.1. Transplantacija srca

Transplantacija srca zlatni je standard u liječenju uznapredovalog zatajivanja srca (engl. *heart failure*, HF) kada su iscrpljene sve ostale metode liječenja kao što je primjena optimalne medikamentne terapije, ugradnja resinkronizacijskog uređaja, revaskularizacija miokarda i slično. Prva transplantacija srca na čovjeku je izvedena 1967. godine u Južnoj Africi, no bolesnik je preminuo od infekcije samo 17 dana nakon operacije (1). Zbog, u prvom redu, unaprjeđenja imunosupresivne terapije u godinama koje su slijedile, ishodi bolesnika nakon transplantacije srca su se s vremenom poboljšali, a transplantacija srca se kao metoda liječenja teškog zatajivanja srca počela tada značajno širiti i razvijati. S jasno definiranim indikacijama za transplantaciju srca postavljenim od strane američkih udruženja kardiologa (engl. *American College of Cardiology*, ACC; *American Heart Association*, AHA; *Heart Failure Society of America*, HFSA) i Europskog kardiološkog društva (engl. *European Society of Cardiology*, ESC) u suradnji s Međunarodnim društvom za transplantaciju srca i pluća (engl. *The International Society for Heart and Lung Transplantation*, ISHLT) velik je nesrazmjer između bolesnika koji su kandidati za transplantaciju srca i pojavnosti darivatelja (2). Upravo zbog toga, bolesnici koji su kandidati za transplantaciju srca moraju biti pomno odabrani i redovno evaluirani od strane transplantacijskoga tima. Dobra upoznatost s vlastitom bolesti, perioperativnim i poslijeoperativnim rizikom, posebnim režimom života i praćenja nakon transplantacije uz potpunu potporu obitelji i okoline od vitalne su važnosti za što dulji, normalniji i kvalitetniji život bolesnika (3).

### 1.1.1. Indikacije za transplantaciju srca

Indikacija za transplantaciju srca je najčešće uznapredovalo akutno ili kronično zatajivanje srca, a rjeđe refraktorna ritmološka nestabilnost ili refraktorna angina pectoris. Bolesnici s uznapredovalim zatajivanjem srca su oni koji imaju značajne ograničavajuće simptome u manjem naporu ili simptome u mirovanju usprkos optimalnoj medikamentnoj terapiji (maksimalna predviđena ili maksimalna tolerabilna), odnosno oni koji su usprkos liječenju u klasi funkcionalne sposobnosti NYHA III/IV (engl. *New York Heart Association*). Također, to su i bolesnici koji imaju česte hospitalizacije zbog akutizacije zatajivanja srca unatoč

optimalnoj terapiji (dva ili više puta u 12 mjeseci). Uznappedovalo zatajivanje srca može biti karakterizirano i pogoršanjem funkcije bubrega pripisanog kardioresrenalnom sindromu, progresivnom pogoršanju funkcije desnog srca, razvojem plućne hipertenzije zbog zatajivanja lijevog srca, ili čestim epizodama ventrikularnih aritmija unatoč optimalnoj terapiji lijekovima i elektrofiziološkim procedurama. Druge značajke poput anemije, gubitka težine, hiponatremije ili disfunkcije jetre koje se ne mogu ni s čim drugim povezati, mogu biti znak uznappedovalog zatajivanja srca. Govoreći o bolesnicima s akutnim zatajivanjem srca, oni koji dožive refraktorni kardiogeni šok unatoč maksimalnoj dozi inotropne terapije ili mehaničkoj cirkulacijskoj podršci kandidati su za transplantaciju srca. Također, komplikacija akutnog zatajivanja srca koja predstavlja indikaciju za transplantaciju je refraktorni plućni edem koji ne reagira na diuretike i zahtjeva mehaničku ventilaciju (4).

### 1.1.2. Kontraindikacije za transplantaciju srca

Postoje određene kontraindikacije zbog kojih bolesnici ne mogu biti aktivni kandidati. Kontraindikacije su vezane uz gotovo sve organske sustave, ali i uz psiho-socijalne čimbenike kao što je prikazano u tablici 1. (4).

Tablica 1. Kontraindikacije za transplantaciju srca (4).

<b>KONTRAINDIKACIJE ZA TRANSPLANTACIJU SRCA</b>
Akutna infekcija
Uznappedovalo ireverzibilno oštećenje jetre
Uznappedovala bolest bubrega s glomerularnom filtracijom manjom od 30 ml/min/1,73m <sup>2</sup>
Povijest hematološkog malignoma ili malignoma solidnih organa unutar posljednjih 5 godina
Nedavni moždani udar
Uznappedovala nerješiva periferna arterijska bolest
Teška bolest pluća s FEV1 i FVC manjim od 50 % predviđenog
Uznappedovala ireverzibilna bolest plućnog parenhima
Nedavna plućna embolija koja zahtjeva antikoagulaciju (u posljednjih 3 do 6 mjeseci)
Teška plućna hipertenzija sa sistoličkim tlakom plućne arterije većim od 60 mmHg i plućnim vaskularnim otporom većim od 4 Wood jedinica
Nedostatak društvene podrške, onesposobljavajuće psihičke bolesti, nepridržavanje preporuka u liječenju, aktivno pušenje ili uporaba droga te nespremnost za prestanak
Morbidna pretilost s indeksom tjelesne mase većim od 35 kg/m <sup>2</sup>

FEV1 - forsirani izdisajni volumen u jednoj sekundi; FVC – forsirani vitalni kapacitet.

### **1.1.3. Komplikacije nakon transplantacije srca**

Komplikacije nakon transplantacije srca se dijele na rane komplikacije koje se javljaju u neposrednom postoperativnom razdoblju unutar nekoliko dana i kasne komplikacije koje se javljaju u periodu od nekoliko mjeseci ili godina nakon transplantacije (2). U rane komplikacije spadaju primarna disfunkcija presatka (engl. *primary graft dysfunction*, PGD) koja se definira kao zatajivanje presatka unutar prvih 24 sata nakon transplantacije u odsustvu hiperakutnog odbacivanja, plućne hipertenzije ili poznatih kirurških komplikacija poput krvarenja ili tamponade (5). Nadalje, rana disfunkcija presatka može biti i sekundarna (engl. *secondary graft dysfunction*, SGD) koja nastaje zbog hiperakutnog odbacivanja presatka, povećanim tlačnim ili volumnim opterećenjem desne klijetke ili neprepoznatom plućnom hipertenzijom primatelja (6). Također, zbog korištenja imunosupresivne terapije, neizbježno se povećava rizik od infekcije. Rizik smrti od infekcije najveći je u prvoj godini nakon transplantacije kada se koristi veća imunosupresija (5). U kasne disfunkcije presatka spada odbacivanje presatka koje može biti stanično ili humoralno posredovano te vaskulopatija srca (engl. *cardiac allograft vasculopathy*, CAV). CAV je dijelom imunosni proces koji dovodi do koncentričnog i uglavnom difuznog suženja ili okluzije koronarnih arterija presatka. Mehanizam nastanka CAV-a još nije do kraja jasan, ali rezultira proliferacijom glatkih mišićnih stanica i upalnih stanica u stijenci koronarnih arterija. CAV predstavlja značajan uzrok smrti kasno nakon transplantacije, a njegova incidencija raste s vremenom proteklom od transplantacije (6). Nadalje, razvoj malignoma solidnih organa javlja se kod otprilike 10 % bolesnika 1 do 5 godina nakon transplantacije. Najčešća maligna bolest povezana s humanim papiloma virusom (engl. *human papillomavirus*, HPV) je karcinom pločastih stanica. Epstein - Barr virusom (engl. *Epstein - Barr virus*, EBV) povezan posttransplantacijski limfoproliferativni poremećaj (engl. *post-transplant lymphoproliferative disorder*, PTLN) također je čest kod transplantiranih bolesnika zbog imunosupresije (5). U nastavku teksta će se detaljnije opisati odbacivanje presatka.

#### **1.1.3.1. Stanično odbacivanje presatka**

Kada imunosni sustav primatelja prepozna transplantirano srce kao strano tkivo, dolazi do aktivacije staničnog imunskog odgovora. Glavni čimbenici u akutnom staničnom odbacivanju (engl. *acute cellular rejection*, ACR) su citotoksični T limfociti (T-stanice CD8+), koje su specifično usmjerene protiv stranih antigena izraženih na površini stanica presatka. Kada se aktiviraju, citotoksične T-stanice selektivno ciljaju stanice transplantiranog srca koje izražavaju

humane leukocitne antigene (engl. *human leukocyte antigens*, HLA) koji se razlikuju od onih u primatelju. Ova prepoznavanja stranih antigena potiču T-stanice da postanu efektorne, tj. da izvršavaju svoje citotoksične funkcije. Aktivirane citotoksične T-stanice migriraju do transplantiranog srca i infiltriraju se u tkivo srca. Tu se vežu za stanice presatka koje izražavaju strane antigene. Nakon povezivanja, T-stanice koriste svoje citotoksične mehanizme kako bi uništile stanice presatka. To može uključivati izlučivanje citotoksičnih supstanci poput perforina i granzima, koji uzrokuju direktno oštećenje stanične membrane i/ili induciraju apoptozu - programiranu staničnu smrt u ciljanim stanicama. Osim navedenog, aktivirane T-stanice mogu izazvati upalnu reakciju u transplantiranom srcu. To uključuje oslobađanje upalnih citokina kao što su interferon-gama (engl. *interferon gamma*, IFN- $\gamma$ ) i faktor nekroze tumora-alfa (engl. *tumor necrosis factor-alpha*, TNF- $\alpha$ ), koji potiču upalne procese i daljnje privlačenje imunskih stanica u tkivo srca (7).

Stanično akutno odbacivanje može se klasificirati prema različitim sustavima ocjenjivanja, a u Hrvatskoj se koristi onaj najčešći - prema ISHLT-u:

Stupanj 0: nema odbacivanja

Stupanj 1R: blago odbacivanje - intersticijski i/ili perivaskularni infiltrat s jednim fokusom oštećenja miofibrila

Stupanj 2R: umjereno odbacivanje - dva ili više fokusa infiltrata s povezanim oštećenjem miofibrila

Stupanj 3R: teško odbacivanje - difuzni infiltrat s multifokalnim oštećenjem miofibrila, s ili bez edema, krvarenja ili vaskulitisa (6).

### **1.1.3.2. Humoralno odbacivanje presatka**

Kada su prisutna donor specifična protutijela (engl. *donor-specific alloantibody*, DSA) usmjerena protiv HLA prisutnih na površini stanica presatka, ona se vezuju za te antigene. Kada se DSA vežu na HLA antigene na transplantiranom srcu, pokreće se niz imunskih reakcija u humoralnom odbacivanju (engl. *acute humoral rejection*, AMR). Jedna od ključnih reakcija uključuje aktivaciju sustava komplemenata što može uzrokovati oštećenje membrana stanica, izazivajući citolizu ili uništavanje stanica. Osim toga, veza DSA s HLA antigenima može potaknuti proces citotoksičnosti stanica. To uključuje aktivaciju prirodnih stanica ubojica (engl.

*natural killer cells*, NK cells) koje mogu uništiti stanice presatka koje izražavaju HLA antigene prema kojima su DSA usmjerena (8).

Klasifikacija humoralnog odbacivanja se bazira na histološkoj i imunopatološkoj analizi bioptata:

Stupanj 0: Nema odbacivanja (negativni histološki i imunopatološki nalaz)

Stupanj 1: Prisutnost histoloških ili imunopatoloških znakova odbacivanja

Stupanj 2: Prisutnost i histoloških i imunopatoloških znakova odbacivanja

Stupanj 3: Prisutnost teških histoloških znakova odbacivanja (npr. intersticijsko krvarenje i edem) i imunopatoloških nalaza (6).

## **1.2. Postoperativno praćenje bolesnika**

Nakon transplantacije srca preporučuje se redovito izvođenje biopsije presatka, ultrazvuka srca (UZV), koronarografije te određivanja DSA-a s ciljem sprječavanja pojave potencijalnog odbacivanja transplantata. Također je preporuka snimiti holter EKG-a i rutinsku standardnu laboratorijsku analizu uzoraka krvi. Transplantacijski centri koriste različite sheme izvođenja istih, ali su generalno kontrole češće u ranom vremenu nakon transplantacije, te se s protekom vremena provode rjeđe ili prema indikaciji (9, 10). Opis i učestalost kontrolnih pretraga je navedena u tablici 2. N-terminalni fragment prohormona moždanog natriuretskog peptida (engl. *N-terminal proBrain natriuretic peptide*, NT-proBNP) se primarno proizvodi u srčanim atrijima, a glavni poticaj za njegovu sintezu i sekreciju je stres srčanog zida. Povišene vrijednosti se javljaju kod bolesnika s kardiološkim komplikacijama koje dovode do zatajivanja srca (11). Razina visoko osjetljivog C-reaktivnog proteina (engl. *high-sensitivity C-reactive protein*, hs-CRP) ukazuje na to kolika je prisutnost upale niskog stupnja u stijenkama krvnih žila u aterosklerozi (12). Prema istraživanjima provedenim u transplantiranih bolesnika u Kliničkom bolničkom centru (KBC) Zagreb, vrijednosti biljega NTproBNP-a i hsCRP-a u ranom i kasnom postoperativnom periodu pokazale su se dobrim prediktorima ukupne smrtnosti nakon transplantacije srca stoga se periodički mjere (3). Objektivizacija funkcijskoga kapaciteta kod bolesnika može se provoditi pomoću šestominutnog hodanja (engl. *six minute walk test*, 6MWT) (3). Također, neophodno je redovito mjeriti koncentracije imunosupresivnih lijekova. Svaki bolesnik nakon transplantacije srca ima povećan rizik oboljenja od malignih bolesti zbog



imunosupresivne terapije koju mora uzimati (13). Zbog navedenog se preporučuju redoviti probiri na najučestalije maligne bolesti. U tablici 3. su prikazane pretrage koje je preporučeno provoditi te njihova učestalost (9). Integrirani interprofesionalni tim s kardiologom, kardijalnim anesteziologom i kirurgom, drugim obučanim medicinskim osobljem i kliničkim farmaceutom dobro upućenim u titraciju i nuspojave imunosupresiva značajno doprinosi boljim ishodima transplantacije srca.

Tablica 2. Shema rutinskih kontrolnih pretraga nakon transplantacije srca u KBC Zagreb.

VRIJEME NAKON TRANSPLANTACIJE	BIOPSIJA MIOKARDA STANIČNO ODBACIVANJE	BIOPSIJA MIOKARDA HUMORALNO ODBACIVANJE	PREGLED NA DSA	KORONAROGRAFIJA	UZV SRCA	6MWT	HOLTER EKG-A
1 mjesec	X	X	X	X	X	X	X
2 mjeseca	X				X	X	X
4 mjeseca	X				X	X	X
6 mjeseci	X	X	X		X	X	X
9 mjeseci	X				X		
1 godina	X	X	X	X	X	X	X
1 godina i 4 mjeseca	X				X		
1 godina i 8 mjeseci	X				X	X	X
2 godine	X	X	X		X	X	X
2 godine i 6 mjeseci	X				X	X	X
3 godine	X	X	X	X	X	X	X
4 godine	X	X	X		X	X	X
5 godina	X	X	X	X	X	X	X
7 godina	X	X	X	X	X	X	X
10 godina	X	X	X	X	X	X	X

DSA – donor-specifična protutijela; EKG – elektrokardiogram; UZV – ultrazvuk; 6MWT – šestminutni test hodanja.

Tablica 3. Preporuka učestalosti preventivnih pregleda (9).

PRETRAGA	UČESTALOST
UZV abdomena	Jednom godišnje
RTG srca i pluća	Jednom godišnje kod pušača
	Svake dvije godine kod nepušača
Mamografija (žene >49. g)	Jednom godišnje
Pregled ginekologa i PAPA razmaz (žene)	Jednom godišnje
Pregled urologa i PSA (muškarci >49 g.)	Jednom godišnje
Pregled dermatologa	Jednom godišnje
Stolica na okultno krvarenje (>49 g.)	Jednom godišnje
Sigmoidoskopija / kolonoskopija	Svakih 5 godina / svakih 10 godina

PSA - prostata-specifični antigen; RTG – rendgen; UZV – ultrazvuk.

### 1.3. Postoperativna terapija

Kako bi se smanjio rizik od odbacivanja presatka, imunosupresivna terapija je neophodna. Doze imunosupresivnih lijekova se smanjuju kako vrijeme nakon operacije prolazi, no neki od ovih lijekova doživotno ostaju u terapiji. Najčešće korišteni imunosupresivi su takrolimus ili ciklosporin u kombinaciji s mikofenolat mofetilom. Uz njih se daju glukokortikoidi poput prednizona. Zbog velike količine imunosupresiva rizik od infekcije je znatno povećan, stoga se u ranom periodu daje određena antimikrobna terapija - prvih 100 dana nakon operacije daje se valganciklovir, a zatim aciklovir kao prevencija infekcije citomegalovirusom (CMV) kroz godinu dana. Kao profilaktička terapija bakterijskih infekcija, posebice *Pneumocystis jirovecii*, toksoplazmoze i *Nocardia* infekcija, koristi se sulfometoksazol s trimetoprimom u trajanju od godine dana. Kao prevencija gljivičnih infekcija koristi se mikonazol oralni gel četiri puta dnevno do godinu dana. Zbog rizika od CAV-a, korištenje statina je neophodno nakon transplantacije srca. Nadalje, uzimanje visokih doza prednizona uzrokuje porast razine glukoze u krvi, posebice noću, stoga se bolesnicima s glikemijom daje inzulin, a kao prevencija ulkusne

bolesti uzrokovane glukokortikoidima koristi se pantoprazol. Deficit vitamina D uzrokovan prednizonom sprječava se nadoknadom pomoću oralnih kapi ili otopine. Kako bi se spriječio deficit vitamina B9, odnosno folne kiseline, do čega može doći prilikom korištenja sulfometoksazola s trimetoprimom, bolesnici dobivaju nadoknadu folne kiseline. Ostala terapija se nakon transplantacije uvodi ovisno o komorbiditetima, stanju bolesnika i tijeku oporavka uzimajući u obzir potencijalne interakcije lijekova i profil bolesnika (14).

#### **1.4. Personalizirana medicina**

Iako su ljudi po većini osobina i velikim dijelom genoma (99,9 %) slični, ipak mogu biti vrlo različiti na individualnoj i osobnoj razini: ne samo po fenotipski prepoznatljivim osobinama poput boje kože, boje kose, visine, težine ili čak osobnosti, već i po drugim osobinama koje se ne mogu uočiti, poput odgovora na liječenje. Za liječnike i farmaceute to predstavlja veliki izazov. Do nedavno, s obzirom na dostupne alate i tehnike, vrijedio je pristup „jednaka doza svima“ (engl. "*one size fits all*"), temeljen na prosječnim dozama za određene indikacije i skupine bolesnika uz eventualne manje prilagodbe. Projekt ljudskog genoma, s podacima cjelokupnog ljudskog genetičkog potencijala, značajno je promijenio pristup liječenju. Zdravstvenim profesionalcima i istraživačima dostupno je obilje genetičkih informacija, koje su uz precizne i osjetljive nove tehnike molekularne biologije velike snage, stvorile pretpostavke za razvoj personalizirane medicine (također nazvane genomske ili precizne medicine) (15). Personalizirana medicina koja sve više zamjenjuje tradicionalni pristup liječenju, odnosi se na primjenu specifičnih profila bolesnika, uključujući genomske podatke, kao i kliničke i okolišne čimbenike, radi procjene individualnih rizika i prilagodbe strategija prevencije i upravljanja bolestima i liječenjem. Zagovornici personalizirane medicine navode njezin potencijal pružanja značajnih zdravstvenih koristi za bolesnike, medicinsko osoblje i društvo, uključujući poboljšano donošenje medicinskih odluka, posebice uvođenjem odgovarajućih terapija prilagođenih genotipu bolesnika umjesto općih preporuka za populaciju (16). Personaliziranom medicinom omogućuje se optimizacija strategija za prevenciju bolesti, uključujući modificiranje načina života i ponašanja, ali i za farmakoterapiju. Potencijalne koristi su također izbjegavanje primjene lijekova slabije učinkovitosti te smanjenje izloženosti lijekovima koji imaju potencijal izazvati toksične reakcije. Personalizirani pristup doprinosi minimalizaciji incidencije nuspojava i komplikacija vezanih uz liječenje. Uz to, ovakav pristup liječenju bolesnika bi mogao dovesti do poboljšanog zadovoljstva bolesnika tijekom procesa

liječenja, poboljšanog pridržavanja terapijskog protokola i smanjenja troškova zdravstvene skrbi (17).

## 1.5. Farmakogenetika i farmakogenomika

Geni se prenose od roditelja na djecu i određuju genotip i fenotip djeteta. Osoba ima po dvije kopije gena, po jednu naslijeđenu od svakog roditelja. Varijante istog gena nazivaju se aleli. Geni se sastoje od deoksiribonukleinske kiseline (engl. *deoxyribonucleic acid*, DNA) i sadrže informacije koje upućuju stanice da proizvode proteine. Genetičke razlike među pojedincima nastaju kada dođe do promjene u DNA sekvenci. Među češće genetičke varijacije pripadaju promjene u jednom nukleotidu (engl. *single nucleotide polymorphism*, SNP), što može rezultirati promjenama u regulaciji, ekspresiji ili aktivnosti proteina. Ako je riječ o farmakogenima, najčešće dolazi do promjene u aktivnosti metabolizirajućih enzima, transportera ili receptora s posljedicom varijabilnosti farmakokinetičkih i/ili farmakodinamičkih parametara lijekova. Ako se radi o genima koji kodiraju za metabolizirajuće enzime, na primjer citokrome P450 (CYP), prema farmakogenetičkoj predispoziciji pojedinci mogu biti klasificirani kao spori, intermedijarni, normalni, brzi ili ultrabrzi metabolizatori (ovisno u CYP-u). SNP-ovi se mogu pojaviti svakih 100 - 300 baznih parova i odgovorni su za oko 90 % svih razlika u ljudskoj DNA. SNP-ovi nisu jedini uzrok genetičke i fenotipske varijabilnosti među ljudima. Korištenjem tehnologija sekvenciranja genoma otkriveno je da genom također ima strukturne varijacije. Strukturne promjene uključuju delecije, duplikacije, inverzije i translokacije. Ove strukturne varijacije mogu značajno doprinosti raznolikosti i osjetljivosti na bolesti kod ljudi. Smatra se da su genetički čimbenici odgovorni za oko 50 % varijabilnosti u odgovoru na liječenje. Dodatno, drugi čimbenici poput kulturalnih, socijalnih i okolišnih mogu imati veliki utjecaj na varijabilnosti u učinkovitosti farmakoterapije (18).

Farmakogenetika i farmakogenomika su pojmovi koji se koriste zamjenjivo. Farmakogenomika proučava istovremeni utjecaj višestrukih varijanti različitih gena pa i čitavog genoma koje mogu odrediti učinkovitost i toksičnost lijeka, dok se farmakogenetika fokusira na utjecaj pojedinačnih genskih polimorfizama (19). Razumijevanje Mendelovih zakona nasljeđivanja i načina kako varijante gena utječu na metabolizam lijekova osnovno je područje ove znanosti. Svrha farmakogenomike je koristiti genetičke informacije za optimizaciju farmakoterapije, maksimizirati učinkovitost i minimizirati nuspojave lijekova. Farmakogenetičke analize imaju

za cilj identificirati bolesnike s većim genetički uvjetovanim rizikom od razvoja nuspojava ili neodgovarajućeg učinka lijeka. U tu svrhu razvijen je značajan broj farmakogenetičkih testova koji se koriste za dijagnostičke i terapijske svrhe. Farmakogenetička testiranja temelje se na otkrivanju najučestalijih varijanti farmakogena povezanih s farmakokinetikom ili farmakodinamikom određenog lijeka. Najčešće se testiraju geni uključeni u **apsorpciju, distribuciju, metabolizam i ekskreciju** lijeka skraćeno nazvani ADME geni. Stoga farmakogenetička analiza omogućava identifikaciju bolesnika koji ne reagiraju na liječenje (rezistencija), ili imaju povećani rizik razvoja nuspojave i zahtijevaju prilagodbu doze (18). U počecima se farmakogenetika bavila identifikacijom varijabilnosti gena specifičnih enzima za metabolizam lijekova, gena CYP, koji su uključeni u metabolizam i eliminaciju lijekova, detoksifikaciju drugih ksenobiotika te biotransformaciju endogenih supstrata poput kolesterola, steroida, arahidonske kiseline, biogenih amina i drugih. Kasnije su otkriveni i polimorfizmi u drugim enzimima metabolizma lijekova faze I i faze II te u transporterima lijekova, povezani s višestrukim karakteristikama odgovora na lijekove. Trenutno, kliničari donose terapijske odluke na temelju laboratorijskih testova, biljega te genetičkih testova i s njima povezanim uputama i smjernicama za doziranje. Stoga postoji potreba za trajnim usavršavanjem u savladavanju tehnika genetičkog testiranja i otkrivanjem novih pouzdanih biljega, ali i razumijevanjem dobivenih rezultata kako bi se mogli prevesti u kliničarima razumljive upute i smjernice za odabir najprikladnijeg lijeka i doze za povoljne terapijske ishode (18).

Farmakogenomski utjecaji koji određuju interakciju lijeka i bolesnika tradicionalno su podijeljeni u četiri kategorije na temelju utjecaja genske varijabilnosti za određeno farmakološko svojstvo lijeka. Moguć je utjecaj na farmakokinetiku lijeka, ako genska varijanta mijenja metabolizam lijeka, utječući na koncentracije lijeka u plazmi. Zatim, moguć je utjecaj na farmakodinamiku, ako genska varijanta modulira vezanje lijeka na njegov receptor, što može rezultirati smanjenom terapijskom učinkovitosti. Nadalje, postoji utjecaj na idiosinkratske reakcije, poput reakcija preosjetljivosti na određeni lijek, koje su najčešće povezane uz HLA sustav. Konačno, može biti izražen utjecaj na patogenezu ili težinu bolesti i odgovor na specifične terapije što uključuje specifične molekularne defekte povezane s patogeneзом određenih malignih bolesti za koje se razvijaju specifične ciljane terapije (20).

## 1.6. Terapijsko praćenje lijekova

Terapijsko praćenje lijeka (engl. *therapeutic drug monitoring*, TDM) definira se kao mjerenje koncentracije lijeka u krvi kako bi se pružile smjernice za donošenje kliničkih odluka vezanih za doziranje. TDM se koristi u različite svrhe, uključujući praćenje adherencije terapije, individualizaciju terapije pomnim titriranjem doze, izbjegavanje toksičnosti, detekciju interakcija lijekova, ekonomičnost te kao smjernice za prekid terapije (21, 22). TDM je posebno važan za lijekove koji imaju usku terapijsku širinu i dobro definirane terapijske raspone i ciljne koncentracije za postizanje optimalne učinkovitosti. TDM je važan i kod bolesnika kod kojih je mehanizam klirensa lijeka oštećen, primjerice u oslabljenoj bubrežnoj funkciji. Aminoglikozidi, antikonvulzivi, digoksin, litij i imunosupresivi su neki od lijekova koji se prate pomoću TDM-a. Za ove lijekove, temeljna pretpostavka je da koncentracija lijeka u krvi bolje korelira s učinkovitošću i toksičnošću nego doza lijeka. Osim toga, klinički znakovi i simptomi toksičnosti mogu se teško prepoznati prije nego što dođe do nepovratne štete (23). Iako je postignut značajan napredak u području farmakogenomike uz bolje razumijevanje genetičke osnove varijabilnosti farmakokinetičkih parametara, pristup određivanja terapije prema farmakogenetičkom nalazu bolesnika ipak nije u potpunosti zamijenio tradicionalni TDM. Nažalost, usprkos njegovom rutinskom korištenju i dokazanoj korisnosti, u kliničkoj praksi nailazimo i na ograničenja u korištenju TDM-a. Razvojem medicine, farmakokinetike i farmakogenetike dolazi do novih spoznaja kako o ciljnim tako i o toksičnim koncentracijama lijekova pa se smatra kako je postojeća literatura zastarjela. Osim toga, nedostatni su i ograničeni podaci za specifične populacije, poput novorođenčadi ili bolesnika s bubrežnim zatajivanjem. Za te populacije bolesnika najčešće nema preporuka zasnovanih na dokazima ili randomiziranim kontroliranim ispitivanjima (24). Osim toga, često postoje značajne razlike u rezultatima dobivenim zbog različitih metoda korištenih za testiranje istog lijeka. Čak i unutar iste metode, razlika može biti veća od 20 % za određeni uzorak. Ova varijabilnost može biti povećana specifičnošću bolesnikovih protutijela prema metabolitima i povezanim spojevima. Nadalje, još jedan otežavajući faktor TDM-a je predanalitička pogreška zbog neodgovarajućeg vremena uzorkovanja, odnosno uzimanja uzoraka pri najnižoj ili najvišoj koncentraciji lijeka. Pogreške u vremenu uzorkovanja mogu uključivati i uzimanje uzoraka prije postizanja dinamičke ravnoteže. Navodi se da je vrijeme uzorkovanja pogrešno u čak 70 % slučajeva. Ova pogreška u vremenu uzorkovanja rezultira neprikladnom indikacijom doze u značajnom udjelu (do 60 %) bolesnika. Naposljetku, širok raspon indikacija za lijekove čini postojanje samo jednog referentnog intervala upitnim, ako ne i nemogućim (25).

## 2. HIPOTEZA I CILJ ISTRAŽIVANJA

Hipoteza je da relevantna dosadašnja publicirana medicinska literatura ukazuje na važnost i klinički značaj farmakogenetičkog profila najbitnijih enzima CYP-a i transportera ABC koji su uključeni u metabolizam imunosupresiva, što može zahtijevati drugačiji pristup u doziranju kako bi se postigao željeni klinički odgovor.

Pregledom literature o učinkovitoj i sigurnoj primjeni takrolimusa kod bolesnika nakon transplantacije srca ovaj rad će izložiti i dokumentirati najvažnije spoznaje na tu temu, opisati najnovije smjernice i preporuke stručnih društava. S obzirom na to da rad obuhvaća više područja medicine koja su međusobno isprepletena u ovom radu će se:

- prikazati najbitniji podatci o imunosupresivnom liječenju nakon transplantacije srca
- opisati uloga farmakogenetike i farmakogenomike u personaliziranoj medicini te njihov potencijal i izazovi za implementaciju u rutinsku praksu
- dati detaljan pregled imunosupresivne terapije koja se koristi u praksi uz naglasak na mehanizam djelovanja te sigurnosni profil lijekova
- dati uvid o trenutnim saznanjima i smjernicama u vezi rutinskog farmakogenetičkog testiranja i doziranja bolesnika na terapiji takrolimusom
- pomoću prikaza kliničkog slučaja objasniti farmakogenetički nalaz i potencijalni problem adekvatnog liječenja takrolimusom kod transplantiranih bolesnika

### 3. MATERIJALI I METODE

Izrada ovog specijalističkog rada temeljena je na teorijskim osnovama, stoga je metodologija dominantno zasnovana na prikupljanju podataka i pretraživanju dostupne relevantne literature. Literaturu su činili članci iz stručnih i znanstvenih časopisa, udžbenika te smjernica različitih stručnih društava. Pretraživana je bibliografska baza podataka (PubMed) te baza podataka sintetiziranog znanja (PharmGKB) pomoću jedne ili kombinacije sljedećih ključnih riječi na engleskom jeziku: transplantacija srca, imunosupresivna terapija, takrolimus, ciklosporin, mikofenolat mofetil, everolimus, farmakogenetika, farmakogenomika, CYP3A4, CYP3A5, polimorfizam, interakcije lijekova, farmakoekonomika. U pregledu literature, fokus je bio na literaturi objavljenoj u razdoblju od 2010. do 2024., uz nekoliko iznimki koje uključuju pionirska istraživanja i studije na teme koje nisu bile često obrađivane u tom periodu. U svrhu prikaza slučaja bolesnika u sklopu ovog rada, podatci o bolesniku su uzeti iz njegove povijesti bolesti i bolničkog informacijskog sustava (BIS) Klinike za bolesti srca i krvnih žila KBC-a Zagreb. Relevantni podatci potrebni za prikaz slučaja su uključivali: anamnezu bolesnika, podatke o bolesti, stanju i kliničkom tijeku nakon transplantacije srca, zatim detaljnu farmakoterapiju s dozama lijekova te laboratorijske nalaze s koncentracijama lijekova i farmakogenetički nalaz.



## 4. REZULTATI

### 4.1. Imunosupresivna terapija

Imunosupresivne režime možemo klasificirati kao indukciju, održavanje ili terapiju kod odbacivanja. Indukcijski režimi pružaju intenzivnu početnu imunosupresiju nakon operacije dok se režimi održavanja koriste tijekom cijelog života bolesnika kako bi se spriječilo akutno i kronično odbacivanje. Postoje tri pristupa upravljanju režimima indukcije i održavanja imunosupresivne terapije. U prvom se pristupu prvih 6 mjeseci nakon transplantacije primjenjuje intenzivna imunosupresija zbog visoke imunosne reaktivnosti i sklonosti prema odbacivanju presatka, koja se postupno s vremenom smanjuje. Stoga se, nakon navedenog perioda, odabiru niže doze održavanja, dostatne za sprječavanje odbacivanja presatka uz minimalizaciju toksičnosti lijeka. U drugom pristupu, primjena manjih doza nekoliko lijekova čiji se toksični profili ne preklapaju ima prednost u odnosu na primjenu manjeg broja lijekova u većim i time potencijalno toksičnijim dozama. U trećem pristupu se izbjegava prekomjerna imunosupresija jer dovodi do niza neželjenih učinaka, uključujući osjetljivost na infekcije i razvoj malignih bolesti. Cilj induksijske terapije je osigurati intenzivnu imunosupresiju kada je rizik od odbacivanja presatka najveći. S kliničkog gledišta, glavne prednosti induksijske terapije su omogućavanje odgođenog početka primjene nefrotoksičnih imunosupresivnih lijekova kod bolesnika s narušenom bubrežnom funkcijom prije ili nakon operacije te fleksibilnost u pogledu ranog postupnog smanjenja glukokortikoida ili korištenja režima održavanja smanjenih glukokortikoida nakon transplantacije. Smanjenje ranog odbacivanja s induksijskom terapijom može biti poništeno povećanjem kasnog odbacivanja nakon završetka induksijske terapije i potencijalnim povećanjem stope infekcije i malignih bolesti povezanih s takvom terapijom. Međutim, bolesnici s najvećim rizikom od fatalnog odbacivanja, uključujući mlađe bolesnike, afroameričke bolesnike, bolesnike s visokim brojem nepodudarnih HLA i bolesnike pod potporom mehaničke cirkulacijske potpore s visokim razinama preformiranih protutijela, mogu imati koristi od induksijske terapije (26).

Jedna od mogućih opcija u induksijskom liječenju su poliklonska protutijela dobivena imunizacijom zečeva s humanim timocitima, odnosno anti-timocitni globulin (engl. *anti-thymocyte globulin*, ATG). To su protutijela usmjerena protiv različitih humanih T-staničnih antigena koja uzrokuju brzu depleciju T limfocita inducirajući citolizu posredovanu

komplementom i opsonizaciju posredovanu stanicama u slezeni i jetri (27). Nadalje, moguće je koristiti antagonist interleukina-2 (engl. *interleukins*, IL), baziliksimumab. To je monoklonsko protutijelo koje selektivno veže na IL-2 receptor T limfocita, blokira vezanje IL-2 na receptorski kompleks i pokazuje svoje imunosupresivno djelovanje inhibiranjem IL-2 posredovane proliferacije T limfocita. Njegova primjena u Hrvatskoj je češća kod transplantacije bubrega. Alemtuzumab je humanizirano mišje monoklonsko protutijelo koje cilja CD52 antigen izražen na T i B stanicama. Koristi se kod manje od 2 % primatelja transplantata srca. Ovaj snažan citolitički agens uzrokuje duboku limfopeniju koja traje otprilike 6 mjeseci i može trajati do 3 godine kod nekih pojedinaca (28). Terapija indukcije koristi se u 50 % bolesnika koji transplantiraju srce. Najčešća indikacija za terapiju indukcije je senzibilizacija na protutijela s obzirom na rizik od hiperakutnog odbacivanja u neposrednom postoperativnom razdoblju. Dodatne indikacije uključuju transplantaciju više organa i primjenu strategije poštudne za bubrege kako bi se omogućilo odgađanje uvođenja terapije kalcineurinskim inhibitorima (29).

Održavanje imunosupresije obično uključuje kombinaciju 2 od 3 vrste lijekova: kalcineurinski inhibitori (engl. *calcineurin inhibitor*, CNI) uz dodatak antimetabolita ili inhibitora signala proliferacije (engl. *proliferation signal inhibitor*, PSI). CNI uključuju takrolimus (TAC) i ciklosporin (CSA). Antimetabolitni lijekovi uključuju mikofenolat mofetil (MMF), mikofenolat natrij (EC-MPS) i azatioprin (AZA). Inhibitori signala proliferacije uključuju sirolimus (SIR) i everolimus (EVL) (30).

CNI i dalje čine temelj režima održavanja imunosupresije nakon transplantacije srca. Uobičajeno je korištenje trojne imunosupresivne terapije, odnosno takrolimusa, mikofenolat mofetila i glukokortikoida (intravenski metilprednizolon, a zatim oralni prednizon). Za određene malignome, poput PTLD-a, PSI s mikofenolat mofetilom može se koristiti u režimu održavanja imunosupresije s niskom dozom bez CNI (30).

Objavljeno je više pojedinačnih i multicentričnih randomiziranih usporedbi između *de novo* uporabe takrolimusa i ciklosporina nakon transplantacije srca (31 – 37). Kao cjelina, ove studije su pokazale slično preživljenje bolesnika i povoljniji profil nuspojava s takrolimusom. Na primjer, metabolički poremećaji povezani s CNI-om čine se značajno ublaženi uporabom takrolimusa. Bolesnici na takrolimusu, u usporedbi s ciklosporinom, konzistentno su imali niže incidencije hipertenzije i hiperlipidemije. Dvije studije su pokazale skromne koristi u pogledu bubrežne funkcije u skupini s takrolimusom (37, 38), dok je jedna studija pokazala veću incidenciju dijabetesa nakon transplantacije u skupini s takrolimusom (24). Što se tiče

učinkovitosti, nekoliko studija je pokazalo smanjenu incidenciju biopsijom potvrđenog akutnog odbacivanja kod bolesnika liječenih takrolimusom (31 – 38).

Međunarodni trendovi u korištenju imunosupresivnih lijekova u režimu održavanja godinu dana nakon transplantacije uključuju stalni porast uporabe takrolimusa u odnosu na ciklosporin od 2005. godine. Godinu dana nakon transplantacije srca, takrolimus je trenutno najčešće propisivani CNI (95 % bolesnika) u transplantaciji srca. Mikofenolat mofetil ostaje dominantni antimetabolitni lijek (91 % bolesnika). Uporaba antiproliferativnih lijekova sirolimusa i everolimusa ostala je niska (9 % bolesnika). Naposljetku, 83 % bolesnika ostalo je na određenoj količini glukokortikoida godinu dana nakon transplantacije. Što se tiče kombinacija lijekova, najčešća uporaba takrolimusa i mikofenolat mofetila s ili bez glukokortikoida bila je tijekom prve godine nakon transplantacije (78 % bolesnika) (26).

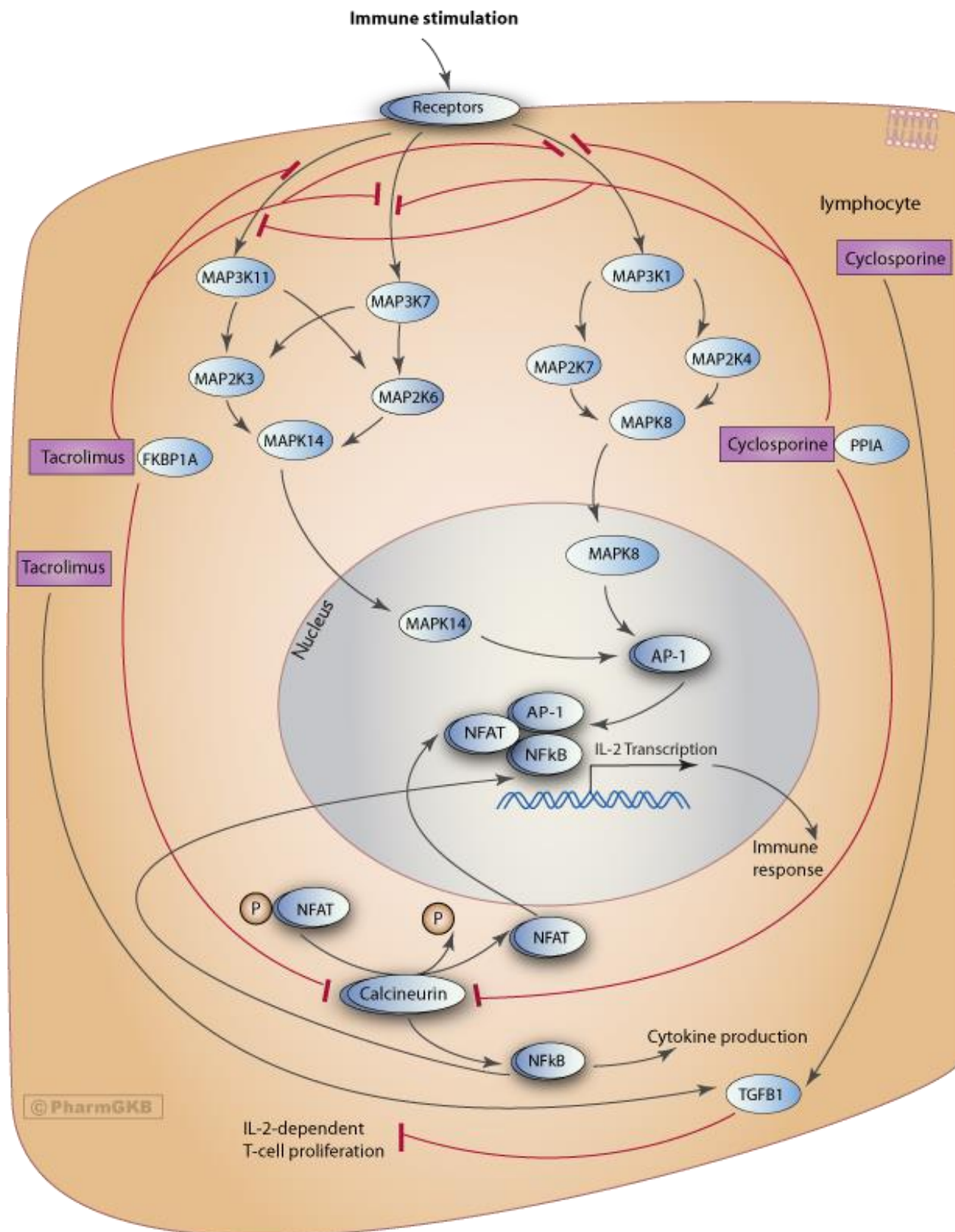
Terapija korištena u liječenju odbacivanju srca ovisi o kojoj težini odbacivanja se radi. Ako je bolesnik asimptomatski, odnosno bez simptoma zatajivanja srca i normalne ejeckijske frakcije (engl. *ejection fraction*, EF) lijeve klijetke, opcije liječenja uključuju oralne glukokortikoide, ciljanje viših razina imunosupresivnih lijekova, prijelaz s ciklosporina na takrolimus ili prijelaz s mikofenolat mofetila na PSI. Budući da je intravenska i oralna terapija glukokortikoidima podjednako uspješna u liječenju asimptomatske ACR, oralni glukokortikoidi često su prva linija liječenja. Asimptomatsko AMR je izazovnije. Može biti povezano s lošim ishodima, ali nije jasno utječe li liječenje na ishode. Jedna od strategija liječenja je davanje oralnog bolusa glukokortikoida uz razmatranje intravenskog imunoglobulina (engl. *intravenous immunoglobulin*, IVIG) i praćenje DSA. Za bolesnike sa simptomima zatajivanja srca ili smanjenom ejeckijskom frakcijom, liječenje je agresivnije, s intravenskim glukokortikoidima i citolitičkom terapijom antitimocitnim globulinom. Ako postoji dokaz AMR2 ili višeg stupnja, bolesnici će također primiti IVIG. Ako su prisutna DSA, bolesnici mogu primiti intenzivniju terapiju rituksimabom ili bortezumibom. Konačno, kod bolesnika koji se predstavljaju s kardiogenim šokom, empirijsko agresivno liječenje uključuje intravenske glukokortikoide, ATG, plazmaferezu, IVIG, heparin i hemodinamsku potporu pomoću intra-aortalne balon kontrapulsacije ili ekstrakorporalne membranske oksigenacije (engl. *extracorporeal membrane oxygenation*, ECMO) (9).

## 4.2. Inhibitori kalcineurina

### 4.2.1. Mehanizam djelovanja

Kalcineurin tvori fosfatazni kompleks koji se sastoji od katalitičke podjedinice (61 kDa) koja se veže za kalmodulin (kalcineurin-A) i regulatorne podjedinice (19 kDa) koja se veže za kalcij (kalcineurin-B). Ovaj protein aktivno sudjeluje u brojnim staničnim procesima i o kalciju-ovisnim signalnim putevima, uključujući aktivaciju T-stanica. Inhibitori kalcineurina s visokim afinitetom vežu se za specifične citoplazmatske receptore poznate kao imunofilini, u koje spadaju ciklofilin i FK-vezujući proteini (engl. *FK-binding protein*, FK-BP). Kompleks lijek-receptor učinkovito i kompetitivno inhibira aktivnost kalcineurina. Dolazi do ometanja translokacije skupine transkripcijskih faktora, uključujući nuklearni faktor aktiviranih T-stanica (engl. *nuclear factor of activated T-cells*, NFAT), što dovodi do smanjenja transkripcije gena citokina, poput IL-2, IL-3, IL-4, TNF- $\alpha$ , liganda CD40 (engl. *CD40 ligand*, CD40L), stimulirajućeg faktora kolonija granulocita-makrofaga i IFN- $\gamma$ . Selektivnom inhibicijom kalcineurina, ovi lijekovi ometaju transkripciju IL-2 i drugih citokina unutar T-stanica, posljedično ometajući aktivaciju, proliferaciju i diferencijaciju T-stanica. Iako tijekom procesa djeluju primarno na T-pomoćne stanice, istovremeno inhibiraju T-supresorske i T-citotoksične stanice. Osim njihove imunosupresivne uloge, također pružaju izravne zaštitne učinke na podocyte, uključujući inhibiciju kalcineurin-inducirane defosforilacije sinaptopodina. Ovaj ključni protein regulira aktinske filamente unutar citoskeleta podocita. Lijekovi poboljšavaju održivost podocita i istovremeno smanjuju njihovu migracijsku aktivnost (31).

Ciklosporin se veže za ciklofilin-1 unutar stanica kako bi formirao kompleks ciklosporin-ciklofilin koji inhibira kalcineurin, što zaustavlja aktivaciju i defosforilaciju NFAT-a koji igra ključnu ulogu u pokretanju upalnih reakcija. Takrolimus i pimekrolimus inhibiraju kalcineurin vežući se na FK-BP (39). Voklosporin dijeli kemijsku strukturu sličnu ciklosporinu, razlikujući se samo u jednoj aminokiselini. Ta strukturna varijacija poboljšava njegovu učinkovitost u inhibiranju kalcineurina. Nadalje, voklosporin inhibira kalcineurin, P-glikoprotein i polipeptidne transportere organskih aniona 1B1 i 1B3 (engl. *organic anion transporting polypeptides*, OATP). Ovi kombinirani postupci značajno pridonose potencijalu voklosporina kao obećavajućeg imunosupresiva (39).



Slika 1. Farmakodinamika ciklosporina i takrolimusa (40). Preuzeto od PharmGKB.

AP-1 - aktivatorski protein-1; FKBP1A - FK-vezujući protein 1A; IL - interleukin; MAPKs - mitogenom aktivirane protein kinaze; NFAT - nuklearni faktor aktiviranih T-stanica; NFκB - nuklearni faktor-κB; PPIA - peptidilprolil izomeraza A; TGFβ1 - transformirajući faktor rasta beta-1.

#### 4.2.2. Indikacije i kontraindikacije

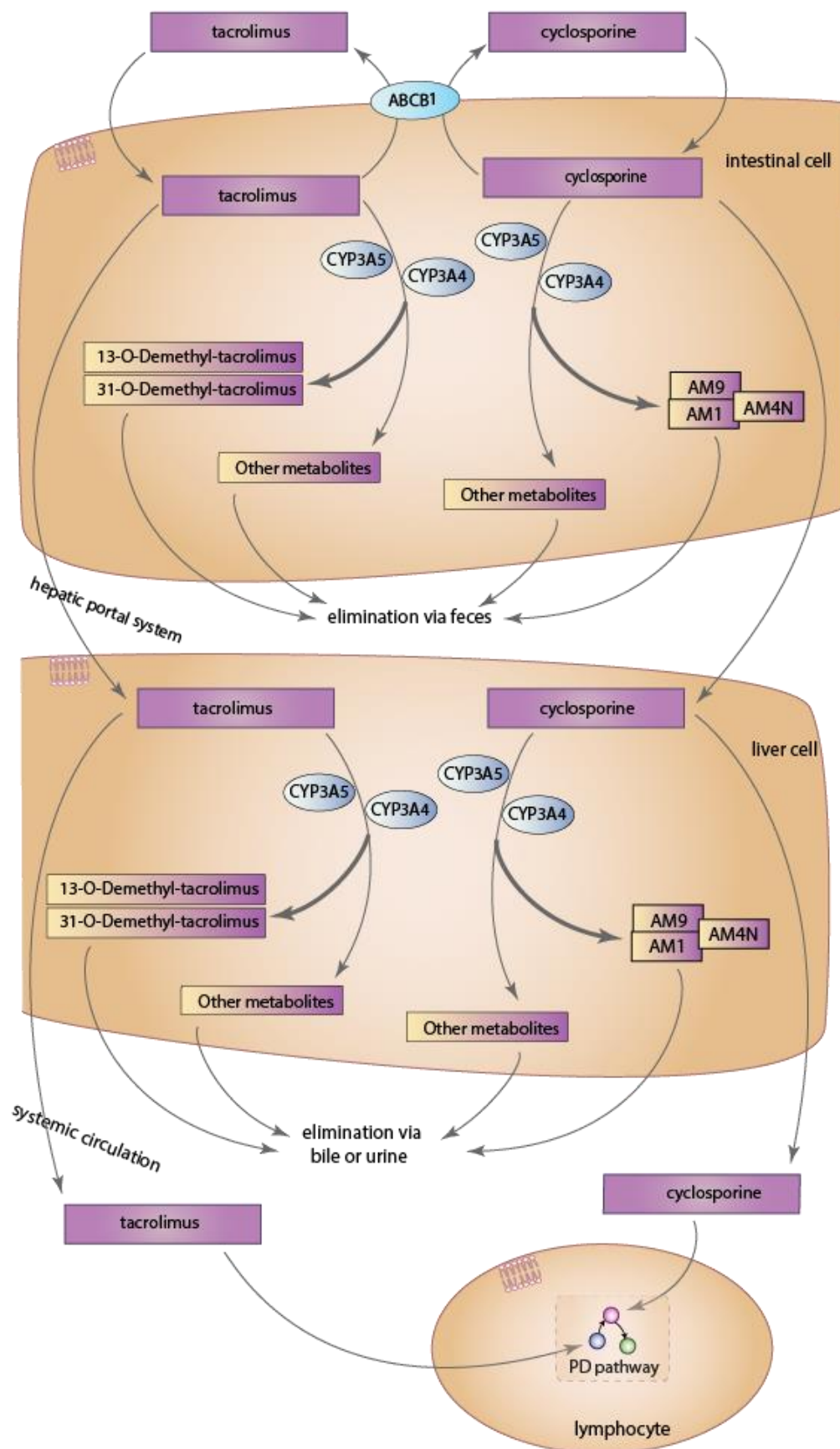
Kalcineurinski inhibitori su klasa imunosupresiva koje se koriste za učinkovito upravljanje raznim autoimunim poremećajima, uključujući, ali ne ograničavajući se na lupusni nefritis, idiopatski upalni miozitis, intersticijsku bolest pluća i atopijski dermatitis. Osim toga, oni služe kao temeljne komponente imunosupresivne terapije kod transplantacije solidnih organa. Voklosporin, novi lijek u klasi imunosupresiva, dobio je odobrenje od strane Uprave za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA) SAD-a 2021. godine za svoju oralnu formulaciju, koja je namijenjena korištenju u kombinaciji s drugim imunosupresivima za liječenje aktivnog lupusnog nefritisa kod odraslih osoba (39).

Intravenska otopina ciklosporina kontraindicirana je kod bolesnika s preosjetljivošću na lijek ili polioksietilirano ricinusovo ulje. Takrolimus je kontraindiciran isključivo u slučajevima dokumentirane povijesti preosjetljivosti na lijek ili polioksil-60 hidrogenizirano ricinusovo ulje. Voklosporin se ne preporučuje za bolesnike s prethodnom poviješću preosjetljivosti na lijek. Nadalje, istovremeno korištenje jakih inhibitora CYP3A4 poput ketokonazola, itrakonazola i klaritromicina predstavlja kontraindikaciju za korištenje CNI. Ova mjera opreza poduzima se kako bi se smanjio rizik od akutne i kronične nefrotoksičnosti, koja bi mogla proizaći iz povišenih koncentracija lijeka u plazmi zbog potencijalnih interakcija. Značajne relativne kontraindikacije za korištenje CNI obuhvaćaju istovremene malignome, nedovoljno kontroliranu hipertenziju i akutne infekcije (39).

#### 4.2.3. Farmakokinetika

Pri ulasku u enterocite, ciklosporin i takrolimus se metaboliziraju putem gastrointestinalnih izoenzima CYP3A, uglavnom CYP3A4 i CYP3A5. CYP3A5 predstavlja dominantni enzim za metabolizam takrolimusa, pri čemu CYP3A4 pridonosi katalizi, ali s nižom učinkovitošću. Nasuprot tome, ciklosporin se uglavnom metabolizira putem CYP3A4. Obitelj enzima CYP3A uključuje i CYP3A7 i CYP3A43. Međutim, njihova uloga u metabolizmu ovih lijekova još nije objašnjena ili je minimalna. Glavni oblik lijeka koji zaobilazi intestinalni metabolizam ulazi u portalni sustav jetre, gdje CYP3A4 i CYP3A5 metaboliziraju takrolimus i ciklosporin. Pri ulasku u sustavnu cirkulaciju, oba lijeka se vezuju u velikoj mjeri za eritrocite, a samo nevezani lijek može ući u limfocite i ostvariti svoje glavne imunosupresivne učinke (41).

Od 15 mogućih metabolita takrolimusa, najzastupljeniji je 13-O-demetil-takrolimus (engl. *13-O-demethyl-tacrolimus*, 13-DMT) koji izražava približno jednu desetinu aktivnosti takrolimusa. 31-O-demetil-takrolimus (engl. *31-O-demethyl-tacrolimus*, 31-DMT) koji je manjinski metabolit, izražava imunosupresivnu aktivnost usporedivu s takrolimusom. Preostali metaboliti pokazali su slabu ili zanemarivu farmakološku aktivnost. Metabolizmom ciklosporina formira se otprilike 25 metabolita. Glavni metaboliti u krvi su AM1 i AM9, koji su hidroksilirani produkti te AM4N, koji je N-demetiliran. CYP3A4 je sposoban transformirati ciklosporin u AM1, AM9 i AM4N, dok CYP3A5 transformira lijek samo u AM9. Do sada proučavani metaboliti imaju smanjenu aktivnost u usporedbi s ciklosporinom, osim AM1 čija imunosupresivna aktivnost varira, ovisno o studijama između 20 % i 80 % aktivnosti ciklosporina (41). Manje od 0,5 % ciklosporina, odnosno 1 % takrolimusa, zbog vrlo opsežnog metabolizma ostaje nepromijenjeno u urinu i fecesu. Otprilike 95 % metabolita takrolimusa i ciklosporina izlučuje se putem žuči, a samo 2 % - 3 % putem urina. Osim CYP3A4 i CYP3A5, transporter P-glikoprotein (engl. *P-glycoprotein*, P-gp) također igra važnu ulogu u farmakokinetici takrolimusa i ciklosporina. Kodiran genom *ABCB1/MDR1*, smješten na apikalnoj površini stanica, pumpa ksenobiotike iz citoplazme prema vanjskoj strani stanice. P-gp se nalazi u visokim koncentracijama u enterocitima vrhova resica tankog crijeva, te smanjuje intracelularne koncentracije oba lijeka izbacivanjem iz enterocita u intestinalni lumen. Nadalje, P-gp transportira lijekove preko membrana unutar hepatocita i stanica bubrega te je uključen u transport lijekova unutar limfocita. Sve navedeno ukazuje da ekspresija i aktivnost P-gp mogu utjecati na stvarnu koncentraciju ciklosporina i takrolimusa unutar ovih stanica. Varijacije u intestinalnom P-gp-u koreliraju s otprilike 17 % varijabilnosti oralnog klirensa ciklosporina, pri čemu veće razine P-gp ukazuju na veći klirens lijeka. Doista, ista studija zaključila je da je za 75 % varijabilnosti u klirensu ciklosporina između bolesnika odgovorna varijacija aktivnosti CYP3A4 u jetri i ekspresija P-gp-a u enterocitima (42). Za takrolimus je primijećena snažna inverzna korelacija između omjera koncentracije/doze takrolimusa i intestinalne razine mRNA *ABCB1* tijekom prvih 7 dana nakon transplantacije jetre (41).



Slika 2. Farmakokinetika takrolimusa i ciklosporina (41). Preuzeto od PharmGKB.  
 AM1, AM9, AM4N – metaboliti ciklosporina; PD pathway – farmakodinamički put.



#### **4.2.4. Nuspojave**

Nuspojave lijekova ciklosporina i takrolimusa dijele značajne sličnosti. Oba lijeka mogu rezultirati nuspojavama poput nefrotoksičnosti, koja se očituje kao akutno povećanje razine kreatinina u plazmi. Ovo stanje je potencijalno reverzibilno smanjenjem doze. U nekim slučajevima, ova se nefrotoksičnost može razviti u kroničnu bolest bubrega, rezultirajući trajnim oštećenjem bubrega koje može biti nepovratno čak i nakon prestanka uzimanja lijeka (43). Hipertenzija je još jedna značajna nuspojava ovih lijekova, koja proizlazi iz renalne vazokonstrikcije i zadržavanja natrija. Rješavanje ovog problema obično uključuje ili smanjenje doze lijeka ili propisivanje antihipertenziva bolesnicima radi regulacije visokih vrijednosti krvnog tlaka (44). Neurotoksičnost se očituje kao tremor, glavobolja, napadaji i u rijetkim slučajevima, encefalopatija (45, 46). Osim toga, stanje poznato kao sindrom boli povezan s CNI također može biti povezano s neurotoksičnošću (47). Metaboličke abnormalnosti povezane s ovim lijekovima obuhvaćaju hiperlipidemiju, hiperkalemiju, hiperuricemiju, giht, hipomagnezijemiju i intoleranciju glukoze. I ciklosporin i takrolimus imaju potencijal izazvati hepatotoksičnost (43). Po život opasne bakterijske, virusne i gljivične infekcije javljaju se zbog suzbijanja imunskog sustava ovim lijekovima. Onkološke bolesti koje mogu nastati kao posljedica uporabe ovih lijekova uključuju karcinome pločastih stanica te benigne i zloćudne limfoproliferativne poremećaje (48). Prijavljene nuspojave uključuju hirzutizam i hiperplaziju desni, što je specifično za ciklosporin, kao i gastrointestinalne smetnje poput anoreksije, mučnine, povraćanja, proljeva i nelagode u trbuhu. Iako takrolimus i ciklosporin dijele sve navedene nuspojave, važno je napomenuti da su gastrointestinalne smetnje i hiperglikemija češće povezane s uporabom takrolimusa, koji je također povezan s alopecijom kao nuspojavom za razliku od ciklosporina. S druge strane, takrolimus ne izaziva hirzutizam ili hiperplaziju desni, što je češće prijavljeno kod uporabe ciklosporina (49, 50).

#### **4.2.5. Praćenje bolesnika na terapiji kalcineurinskim inhibitorima**

Dokumentirani su slučajevi bolesnika koji su primali ciklosporin te kao nuspojavu imali disfunkciju jetre jer se lijek metabolizira u jetri. Stoga se preporučuje redovito praćenje testova funkcije jetre kod bolesnika s jetrenom insuficijencijom. Nadalje, hipertenzija je česta nuspojava, što zahtijeva praćenje krvnog tlaka. Kako bi se izbjegao potencijalni rizik od životno opasne hiperkalemije, preporučuje se odabir antihipertenzivnog lijeka koji ne pripada kategoriji diuretika koji štede kalij. Tijekom prva tri mjeseca praćenja preporučuje se procjena razine ureje

u krvi i kreatinina kod bolesnika svaka dva tjedna (51). Zbog metabolizma u jetri putem enzima CYP3A4, preporučuje se redovito praćenje koncentracije takrolimusa, posebno kada bolesnici istovremeno uzimaju lijekove koji induciraju ili inhibiraju taj enzim. Važno je napomenuti da afroamerički bolesnici mogu zahtijevati veće doze lijeka kako bi postigli ekvivalentne vrijednosti koncentracije lijeka u plazmi. U slučajevima bubrežne i jetrene insuficijencije, bolesnicima treba propisivati najniže doze takrolimusa unutar početnog oralnog raspona doza (39). Ciklosporin treba pratiti korištenjem 12-satnih minimalnih koncentracija (C<sub>0</sub>), dvosatnih nakon doze (C<sub>2</sub>) ili skraćene površine ispod krivulje koncentracije u odnosu na vrijeme (engl. *area under the curve*, AUC). Praćenje C<sub>2</sub> može biti preciznije, ali često je teže primjenjivo i manje praktično za bolesnika. Većina centara prati ili C<sub>0</sub> ili C<sub>2</sub> koncentracije, ali ne i obje. U rijetkim okolnostima, procjena obje vrijednosti može biti korisna kod bolesnika s problemima apsorpcije. Takrolimus treba pratiti korištenjem 12-satnih koncentracija za pripravke s brzim otpuštanjem i 24-satnih minimalnih koncentracija (C<sub>0</sub>) za pripravke s produljenim otpuštanjem (52). Koncentracije u krvi treba provjeravati dva do tri dana nakon početka primjene ciklosporina ili takrolimusa i nakon svake promjene doze. Nakon transplantacije, koncentracije se mjere svakih nekoliko dana ili češće dok su bolesnici hospitalizirani. Pristup je često individualiziran, no generalno, nakon otpusta, razine treba mjeriti jednom tjedno ili svaka dva tjedna u prvim mjesecima po otpustu, a u konačnici jednom mjesečno. Neki stabilni, nisko rizični bolesnici mogu mjeriti koncentracije svaka dva do tri mjeseca. Međutim, ako se dodaju ili ukidaju lijekovi koji utječu na metabolizam ciklosporina ili takrolimusa, bit će potrebno češće mjerenje koncentracija (43).

U kliničkoj praksi, prilagodba doze provodi se u malim pomacima uz naknadno praćenje koncentracije lijeka. Ako je koncentracija ciklosporina visoka, tada se doza ciklosporina može smanjiti za 25 mg do 50 mg po dozi. Ako je koncentracija niska, tada se doza može povećati za 25 mg do 50 mg po dozi. Za takrolimus, prilagodbe doze obično su 0,5 mg do 1 mg po dozi. Ako je koncentracija lijeka prekomjerna (npr. C<sub>0</sub> > 400 ng/mL za ciklosporin ili > 20 ng/mL za takrolimus), tada se doza može preskočiti dok se vrijednosti koncentracija ne vrate u terapijski raspon. Važno je utvrditi je li koncentracija ispravno određena prije bilo kakvih prilagodbi doze. Takrolimus i ciklosporin dostižu stabilne koncentracije nakon četiri do šest doza, stoga se prilagodbe doze mogu procijeniti praćenjem koncentracije lijeka dva do tri dana nakon prilagodbe. Osim toga, sigurnost i učinkovitost treba pratiti nakon prilagodbi. Na optimalnu dozu i koncentraciju utjecaj imaju razni čimbenici, uključujući farmakokinetičke čimbenike, prisutnost infekcije, toksičnost lijeka i/ili odbacivanje organa. Testiranje na polimorfizme gena

koji kodiraju P-glikoprotein i CYP3A4/5 može pomoći u doziranju kalcineurinskih inhibitora, ali potrebne su velike, dobro osmišljene studije kako bi se utvrdilo poboljšava li testiranje ishoda i je li ekonomski opravdano (43).

### **4.3. Mikofenolat mofetil**

#### **4.3.1. Mehanizam djelovanja**

Mikofenolat mofetil je prolijek mikofenolne kiseline (engl. *mycophenolic acid*, MPA), inhibitor inozin-5'-monofosfat dehidrogenaze (engl. *inosine-5'-monophosphate dehydrogenase*, IMPDH). Mikofenolna kiselina preferencijalno iscrpljuje gvanozinske nukleotide u T i B limfocitima te inhibira njihovu proliferaciju, čime potiskuje stanično posredovane imunosne odgovore i formiranje protutijela (53).

#### **4.3.2. Indikacije i kontraindikacije**

Mikofenolat mofetil indiciran je u kombinaciji s drugim imunosupresivima kako bi se spriječilo odbacivanje transplantiranih bubrega, srca ili jetre kod odraslih i djece starije od 3 mjeseca. Mikofenolat mofetil može se također koristiti i *off-label* kao lijek druge linije za autoimuni hepatitis koji nije uspješno liječen lijekovima prve linije. Ostale neovisne primjene ovog lijeka uključuju lupusom povezani nefritis i dermatitis kod djece (54). U slučaju preosjetljivosti na djelatnu ili neke od pomoćnih tvari lijek je kontraindiciran, kao i kod žena reproduktivne dobi koje ne koriste visoko učinkovite metode kontracepcije, nemaju predočen nalaz negativnog testa na trudnoću prije početka primjene lijeka ili su trudne, a postoji prikladno alternativno liječenje kojim bi se spriječilo odbacivanje presatka. Uporaba kod dojilja je također kontraindicirana (55).

#### **4.3.3. Farmakokinetika**

Oralna bioraspoloživost aktivnog oblika lijeka mikofenolne kiseline nakon primjene mikofenolat mofetila kreće se od 80,7 % do 94 %. Prosječno vrijeme poluživota lijeka je od 9 do 17 sati. U krvi, mikofenolna kiselina je do 97 % vezana za albumin. Oralno primijenjeni mikofenolat mofetil brzo se presistemički biokativira u mikofenolnu kiselinu karboksilesterazama (engl. *carboxylesterase*, CES), uglavnom CES-1 i CES-2. Unutar crijeva,

mikofenolat mofetil se hidrolizira u mikofenolnu kiselinu i ostale metabolite od strane CES-2. Mikofenolat mofetil koji zaobilazi početnu intestinalnu hidrolizu ulazi u jetru putem portalne vene i pretvara se u mikofenolnu kiselinu u hepatocitima gdje se odvija veći udio hidrolize nego u crijevu. I CES-1 i CES-2 izraženi su u jetri; međutim, samo CES-2 je izražen u crijevu. Glukuronidacija faze II mikofenolne kiseline je glavni metabolički put posredovan UDP glukuronozil transferazama (engl. *UDP glucuronosyl transferase*, UGT). Glukuronidacija mikofenolne kiseline se odvija uglavnom u jetri, ali u određenoj mjeri i u crijevima i bubrezima. Primarni enzimi uključeni u glukuronidaciju mikofenolne kiseline su UGT1A8 i UGT1A9 s manjom ulogom UGT1A1, 1A7 i 1A10. MPA-7-O-glukuronid (engl. *MPA-7-O-glucuronide*, MPAG) se uglavnom izlučuje urinom aktivnom tubularnom sekrecijom i glomerularnom filtracijom. UGT1A8 i UGT1A10 izraženi su samo izvan jetre i stoga su odgovorni za metabolizam mikofenolne kiseline u gastrointestinalnom traktu. UGT1A9 igra dominantnu ulogu u jetrenom metabolizmu mikofenolne kiseline. Drugi metabolit mikofenolne kiseline je njegova acil-glukuronidni oblik, Ac-MPAG, generiran pomoću UGT2B7, koji ima sličnu aktivnost kao i mikofenolna kiselina. Ac-MPAG je manji metabolit i iako djeluje istim mehanizmom inhibicije kao mikofenolna kiselina, pokazalo se da je slabiji inhibitor rekombinantne humane IMPDH tip II u usporedbi s mikofenolnom kiselinom, sugerirajući da nije farmakološki aktivan i vjerojatno ne doprinosi učinku mikofenolne kiseline. Metabolit 6-O-desmetil-MPA (engl. *6-O-desmethyl-MPA*, DM-MPA) formira se pomoću jetrenih enzima uglavnom CYP3A4, CYP3A5 i u manjoj mjeri CYP2C8. Dalje podliježe konjugaciji kako bi formirao dva glukuronida koji čine vrlo malu frakciju mikofenolne kiseline. MPAG i Ac-MPAG, a ne mikofenolna kiselina, supstrati su OATP, posebice OATP1B3 i OATP1B1. MPAG i Ac-MPAG izlučuju se u žuč putem proteina povezanog s višestrukou otpornošću na lijekove 2 (engl. *multidrug resistance-associated protein 2*, MRP2) kodiranog genom *ABCC2*. MPAG koji se izlučuje u žuč podliježe deglukuronidaciji bakterijskim enzimima u gastrointestinalnom traktu, formirajući mikofenolnu kiselinu, koja se ponovno reciklira. Farmakokinetičke studije pokazuju pojavu sekundarnog vrha koncentracije mikofenolne kiseline nakon 6 do 12 sati oralne primjene, što ukazuje na enterohepatičku cirkulaciju. Mikofenolna kiselina se uglavnom izlučuje urinom kao MPAG metabolit (87 %) i u zanemarivim količinama kao mikofenolna kiselina (<1 %) (56).

#### **4.3.4. Nuspojave**

Proljev (do 52,6 %), leukopenija (do 45,8 %), bakterijske infekcije (do 39,9 %) i povraćanje (do 39,1 %) bile su neke od najčešćih i/ili najozbiljnijih nuspojava primjene lijeka u kombinaciji s ciklosporinom i glukokortikoidima. Također je dokazana veća učestalost određenih vrsta infekcija (55).

#### **4.3.5. Praćenje bolesnika na terapiji mikofenolat mofetilom**

Prije početka terapije potrebno je kod žena reproduktivne dobi učiniti 2 testa na trudnoću u razmaku od 8 do 10 dana. Također se svima rade rutinski biokemijski testovi (albumin, ALT, AST, KKS, ureja, kreatinin) te mjeri krvni tlak. Potrebno je provjeriti status cijepljenja i ako nije obavljeno, preporučuje se cijepljenje protiv pneumokoka i influence prije početka liječenja. Nakon početka terapije ili promjene doze, potrebno je na dvotjednoj bazi prvih 6 tjedana, a zatim svaka 3 mjeseca pratiti funkciju jetre i bubrega kao i kompletnu krvnu sliku te krvni tlak (57).

### **4.4. Everolimus**

#### **4.4.1. Mehanizam djelovanja**

Everolimus iskazuje svoj imunosupresivni učinak inhibirajući proliferaciju, a time i klonalnu ekspanziju antigenom aktiviranih T limfocita, potaknutu IL-2 i IL-15. Dolazi do inhibicije unutarstaničnog signalnog puta koji se pokreće vezanjem ovih faktora rasta T limfocita na njihove odgovarajuće receptore, što normalno dovodi o stanične proliferacije. Rezultat je zastoj stanica u G1 stadiju staničnog ciklusa. Na molekularnom nivou, everolimus stvara kompleks s citoplazmatskim proteinom FKBP-12 i time inhibira fosforilaciju p70 S6 kinaze stimuliranu faktorom rasta koja je pod kontrolom FRAP (engl. *FK506-binding protein 12-rapamycin-associated protein*). Drugi naziv za ovaj protein je m-TOR (engl. *mammalian target-of-rapamycin*) te predstavlja ključan regulacijski protein koji upravlja metabolizmom, rastom i proliferacijom stanica. Everolimus inhibira djelovanje m-TOR-a s posljedicom zastoja u staničnom ciklusu. Učinak everolimusa nije ograničen samo na T limfocite. On inhibira proliferaciju hematopoetskih, kao i nehematopoetskih stanica općenito, kao što su glatke mišićne stanice stijenke krvnih žila. Ozljedom stanica endotela pokreće se proliferacija glatkih

mišićnih stanica stijenke krvnih žila, stimulirana faktorom rasta, koja dovodi do stvaranja novog sloja intime (neointima), što igra glavnu ulogu u patogenezi kroničnog odbacivanja (58).

#### **4.4.2. Indikacije i kontraindikacije**

Inhibitor m-TOR-a everolimus, odobren je u Europi od 2004. godine za prevenciju odbacivanja solidnih organa kod odraslih bolesnika s niskim do umjerenim imunskim rizikom. Razvijen je radi poboljšanja farmakokinetike inhibitora m-TOR-a sirolimusa kroz stabilnu supstituciju lanca 2-hidroksietila na poziciji 40. molekule sirolimusa. Ova promjena omogućuje kraći poluživot, što omogućuje kraću izloženost i bržu eliminaciju everolimusa. Ako ne postoje posebna ograničenja koja treba uzeti u obzir, svi novi bolesnici koji su podvrgnuti transplantaciji srca mogu se smatrati potencijalnim kandidatima za imunosupresiju temeljenu na everolimusu. Međutim, potreban je oprez kod određenih kategorija bolesnika, poput onih s povećanim rizikom od teške proteinurije, lošeg zacjeljivanja rana, bolesnika koji imaju nekontroliranu tešku hiperlipidemiju ili visoki rizik od infekcije (59).

#### **4.4.3. Farmakokinetika**

Everolimus se primjenjuje peroralno, a vršna koncentracija u krvi javlja se 1-2 sata nakon primjene. Koncentracije u krvi su proporcionalne dozi, ali se mogu smanjiti ako se lijek uzima s punomasnim obrokom. Distribucija u krvi ovisi o koncentraciji, a vezanje za proteine plazme je oko 74 %. Everolimus je supstrat za CYP3A4 i P-gp, formira šest glavnih metabolita nakon peroralne primjene, s aktivnosti 100 puta manjom od ishodišnog spoja. Eliminacija se događa uglavnom putem stolice. Farmakokinetika u stanju ravnoteže pokazuje stabilne koncentracije tijekom vremena, s  $C_{min}$  koji korelira s AUC. Poluvrijeme eliminacije iznosi oko 28 sati (58).

#### **4.4.4. Nuspojave**

Najčešće prijavljene nuspojave bolesnika koji imaju everolimus u terapiji bile su infekcije, anemija, hiperlipidemija, novonastali dijabetes melitus, nesаница, glavobolja, hipertenzija, kašalj, konstipacija, mučnina, periferni edem, oštećeno zacjeljivanje, pleuralni i perikardijalni izljev (58).

#### 4.4.5. Praćenje bolesnika na terapiji everolimusom

Prilikom liječenja potrebna je redovita kontrola funkcije jetre i bubrega, kompletne krvne slike, s fokusom na broj leukocita i trombocita te krvni tlak. Lipidogram se također kontrolira, kao i razina glukoze u krvi. Nadalje, potrebno je obratiti pažnju na tijek zacjeljivanja rane (60).

### 4.5. Glukokortikoidi

#### 4.5.1. Mehanizam djelovanja

Protuupalni i imunosupresivni učinci glukokortikoida ovise o dozi, pri čemu se imunosupresivni učinci uglavnom opažaju pri višim dozama. Farmakološki protuupalni i imunosupresivni učinci glukokortikoida su opsežni i rezultat su genomskih ili negenomskih mehanizama. Većina učinaka glukokortikoida ostvaruje se putem genomskih mehanizama, za što je potrebno vrijeme, dok se neposredni učinci putem negenomskih mehanizama mogu pojaviti s visokim dozama glukokortikoida (kao što je pulsna terapija). Klinički nije moguće razdvojiti te učinke (61).

#### Genomski mehanizmi

Budući da su male, lipofilne tvari, glukokortikoidi lako prolaze staničnu membranu difuzijom i ulaze u citoplazmu ciljnih stanica, gdje je većina njihovog djelovanja posredovana vezanjem na intracitoplazmatske glukokortikoidne receptore  $\alpha$ -izoforme. Vezanje glukokortikoida na glukokortikoidni receptor dovodi do odvajanja proteina toplinskog šoka (engl. *heat shock protein*, HSP) koji su inače vezani za glukokortikoidni receptor, što rezultira stvaranjem aktiviranog kompleksa glukokortikoidni receptor-glukokortikoid, koji se lako translocira u jezgru. U jezgri ciljnih stanica ovaj se kompleks reverzibilno veže na nekoliko specifičnih deoksiribonukleinskih mjesta što rezultira stimulacijom (transaktivacijom) i supresijom (transrepresijom) transkripcije gena. Transrepresija transkripcijskih faktora kao što je nuklearni faktor- $\kappa$ B (engl. *nuclear factor kappa B*, NF- $\kappa$ B), aktivatorski protein-1 (engl. *activator protein-1*, AP-1) i interferonski regulatorni faktor-3 (engl. *interferon regulatory factor 3*, IRF-3) rezultira supresijom sinteze proupalnih citokina kao što su IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF, IFN- $\gamma$ , Cox-2 (engl. *cyclooxygenase-2*), VEGF (engl. *vascular endothelial growth factor*) i prostaglandini. Transaktivacija faktora transkripcije, uključujući elemente odgovora na glukokortikoid (engl. *glucocorticoid response element*, GRE), dovodi do aktivacije sinteze protuupalnih citokina kao što su IL-10, inhibitor NF- $\kappa$ B i lipokortin-1 (61).

## Negenomski mehanizmi

U visokim dozama, glukokortikoidi se vežu na glukokortikoidne receptore na ciljnim stanicama kao što su T limfociti, što dovodi do oštećenja receptorske signalizacije i imunosnog odgovora T limfocita. Visoke doze glukokortikoida također djeluju na kruženje kalcija i natrija kroz staničnu membranu što rezultira brzim smanjenjem upale (61).

### 4.5.2. Indikacije i kontraindikacije

Glukokortikoidna terapija je standardna komponenta u terapiji indukcije i održavanja protiv odbacivanja nakon transplantacije srca. Visoke doze glukokortikoida općenito se primjenjuju intraoperativno i postoperativno uz postupno smanjivanje doze tijekom mjeseci. Glukokortikoidi u pulsним dozama, oralni ili intravenski, koriste se kao prva linija za umjereno odbacivanje (stupanj 3A ili 3B) bez hemodinamskog kompromisa prilikom čega je pozitívni odgovor na terapiju u 80 % do 85 % epizoda odbacivanja (62). Osim preosjetljivosti na djelatnu ili neku od pomoćnih tvari, apsolutnih kontraindikacija nema, no potrebna su posebna upozorenja i mjere opreza pri uporabi kod bolesnika s teškom aktivnom infekcijom, peptičkim ulkusom, osteoporozom, hipertenzijom ili dijabetesom melitusom kojeg je teško kontrolirati te glaukomom uskog i širokog kuta (63).

### 4.5.3. Farmakokinetika

Nakon oralne primjene najčešće korišteni glukokortikoid u imunosupresiji, prednizon, brzo se i gotovo u potpunosti apsorbira, a maksimalna serumska koncentracija postiže se za 1-2 sata. Pri prvom prolasku kroz jetru 80 - 100 % prednizona metabolizira se do prednizolona. Reverzibilno se veže na transkortin i plazmatski albumin. Prednizolon se dominantno metabolizira u jetri, glukuronidacijom (oko 70 %) i sulfatacijom (oko 30 %). Metaboliti su hormonski inaktivni i pretežno se eliminiraju bubrezima. U neizmijenjenom obliku prednizon / prednizolon u urinu se mogu naći samo u minimalnom udjelu. Poluvrijeme eliminacije iz plazme je oko 3 sata, a produljeno je kod teških poremećaja funkcije jetre. Trajanje djelovanja prednizona je dulje nego što je njegovo zadržavanje u serumu; kod srednjih doza iznosi 18 do 36 sati (63).



#### **4.5.4. Nuspojave**

Glukokortikoidi su povezani s najvećim brojem dugoročnih nuspojava. Hipertenzija, emocionalna labilnost, katarakta, želučani ulkus, loše zacjeljivanje rana i proksimalna miopatija povezani su s terapijom glukokortikoidima. Hirsutizam, akne, lako stvaranje modrica, krhkost kože, mjesečevo lice, bivolja grba, debljanje i pretilost trupa su kozmetičke nuspojave koje uvelike smanjuju kvalitetu života bolesnika. Metaboličke nuspojave se javljaju u vidu hiperlipidemije, zadržavanja soli i vode, dijabetes melitusa, osteopenije i zastoja u rastu kod djece. Dugotrajna primjena glukokortikoida može rezultirati kroničnom supresijom nadbubrežne žlijezde, a adrenalna insuficijencija može uslijediti nakon smanjenja doze glukokortikoida ili "stresa" (bolest, kirurški zahvati, infekcije). "Stresne" doze hidrokortizona trebale bi se primijeniti kratkoročno (64).

#### **4.6. Interakcije imunosupresivnih lijekova**

Zdravstveni radnici uključeni u skrb transplantiranih bolesnika moraju biti svjesni potencijala interakcija lijekova, posebice kada dolazi do isključenja ili uključivanja nekog od lijekova iz terapije. Najčešće promjene koje zahtijevaju pomno praćenje nuspojava i koncentracija imunosupresiva su nakon uvođenja terapije protiv infekcije (65).

Iako većina interakcija lijekova nije klinički značajna i samo nekoliko kombinacija je apsolutno kontraindicirano, mnoge od njih mogu izazvati ozbiljne posljedice u odsutnosti odgovarajućeg praćenja i prilagodbi doza. Moguće posljedice mogu uključivati odbacivanje organa ili akutno oštećenje bubrega zbog suprat terapijskih razina inhibitora kalcineurina. Procjena i provjera farmakoterapije od strane kliničkog farmaceuta kao suradnika transplantacijskog tima može biti korisna (65).

Farmakokinetičke interakcije lijekova javljaju se kada lijek mijenja koncentracije imunosupresivnog agensa u krvi ometajući apsorpciju, distribuciju, metabolizam ili eliminaciju imunosupresivnog agensa. Većina klinički važnih farmakokinetičkih interakcija lijekova javlja se zbog promijenjenog metabolizma lijeka. CNI i PSI se intenzivno metaboliziraju putem CYP3A4 u jetri pa na njihove razine u krvi utječu lijekovi koji potiču ili inhibiraju taj put. Lijekovi koji su induktori CYP3A4 rezultiraju poboljšanim metabolizmom CNI i PSI, čime se snižavaju njihove razine u krvi i posljedično klinička učinkovitost. U snažne induktore CYP3A4 spadaju karbamazepin, fenobarbital, fenitoin, rifampin, efavirenz, nevirapin te

gospina trava. S druge strane, lijekovi koji inhibiraju enzimski put CYP3A4 rezultiraju smanjenim metabolizmom CNI i PSI, čime se povećavaju njihove razine u krvi i pojačavaju njihovi toksični učinci. Mnogi lijekovi inhibiraju CYP3A4, a oni najčešće korišteni su makrolidni antibiotici, azolni antifungalni lijekovi, nehidropiridinski blokatori kalcijevih kanala, amiodaron i nekoliko antiretrovirusnih lijekova (26).

Farmakodinamičke interakcije lijekova javljaju se kada lijek modulira učinak immunosupresivnog agensa pri određenoj koncentraciji u krvi, bilo povećavajući ili smanjujući terapijske i/ili toksične učinke immunosupresivnog lijeka. Na primjer, istovremena uporaba ganciklovira, valganciklovira ili trimetoprim-sulfametoksazola može pojačati mijelosupresivne učinke antimetabolitnih agenasa i PSI. Još jedan primjer aditivne nefrotoksičnosti opažen je kada se amfotericin B, aminoglikozidi, foscarnet ili nesteroidni protuupalni lijekovi koriste s CNI (26).

#### **4.7. Terapijsko praćenje immunosupresiva**

Transplantirani bolesnici moraju doživotno uzimati kombinaciju immunosupresivnih lijekova kako bi održali funkciju svog presatka. TDM je dobro uspostavljen pristup vođenju terapije koji uključuje individualizaciju doze lijeka održavanjem koncentracija lijeka unutar definiranog ciljnog raspona (66). Immunosupresivi kod kojih je potrebno primjenjivati TDM su ciklosporin, takrolimus, sirolimus, mikofenolna kiselina i everolimus. Problem TDM-a ove skupine lijekova je kompleksan skup ciljnih vrijednosti s obzirom na to da su korišteni u različitim modalitetima liječenja od kojih svaki ima različitu ciljnu koncentraciju ovisno o transplantiranom organu, lijeku, formulaciji (npr. *rapid* ili *retard* oblik), vremenu proteklom od transplantacije, faktorima rizika bolesnika, komorbiditetima i kombinaciji lijekova koju koristi. Također, moguće su značajne varijacije u rezultatima analize ovisno o korištenoj metodi TDM-a (24). Razlozi za rutinsko provođenje TDM-a prilikom terapije immunosupresivima su što je terapijski raspon ovih lijekova uzak, a posljedice ozbiljne ako se koncentracija ne nalazi unutar granica raspona. Prevelika koncentracija lijeka može postići toksični učinak, dovesti do prekomjerne immunosupresije što rezultira povećanim rizikom od infekcija i malignosti. Premala koncentracija lijeka može dovesti do oštećenja funkcije, odbacivanja i gubitka presatka. Nadalje, toksično-dinamički učinci mogu se teško razlikovati od kliničke bolesti (npr. nefrotoksičnost uzrokovana inhibitorima kalcineurina od oštećenja funkcije presatka bubrega ili od nefropatije uzrokovane BK virusom). Također, veza između doze / izloženosti je među

pojedincima i unutar pojedinca vrlo varijabilna. Prilagodba doze i ciljnog raspona specifična je za bolesnika, a veze između doze i koncentracije ovise o različitim faktorima, uključujući, ali ne ograničavajući se na genske polimorfizme, interakcije lijekova međusobno, ali i interakcije lijeka i bolesti, hrane ili okoliša. Naposljetku, precizno pridržavanje imunosupresivnog terapijskog režima je vrlo izazovno i zahtjeva učestalo praćenje, posebno kod adolescenata i pedijatrijskih bolesnika (67). Znanstveni odbor za imunosupresivne lijekove Međunarodnog udruženja za terapijsko praćenje lijekova i kliničku toksikologiju (engl. *International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology*, IATDMCT) izdao je 2017. godine ažurirani konsenzusni izvještaj kako bi se pomoglo zdravstvenim radnicima u provedbi TDM-a i individualizaciji doziranja takrolimusa. Za svaku kategoriju transplantacije solidnih organa i matičnih stanica utvrđena je potreba praćenja vrijednosti minimalne koncentracije takrolimusa u uzorku krvi uzetom sat vremena prije jutarnje doze. Osim toga, određivanje površine ispod krivulje koncentracije-vremena takrolimusa predlaže se kao najbolja opcija TDM-a u ranom periodu nakon transplantacije. Utvrđena je značajna povezanost između genotipa CYP3A5 i potrebne doze takrolimusa (razina A I) (68). Razina preporuke A označava jaku preporuku u kojoj korist jasno nadmašuje rizik za većinu, ako ne i za sve bolesnike. Razina dokaza I upućuje na to da su dokazi visokokvalitetni, odnosno iz randomiziranih studija ili neosporivi dokazi drugih oblika (69). Razmatraju se i populacijski farmakokinetički modeli uključujući genotipove CYP3A5 i CYP3A4 za prilagodbu početne doze takrolimusa (68). Znanstveni odbor za imunosupresivne lijekove IATDMCT-a donio je 2014. godine preporuke za provedbu terapijskog praćenja everolimusa s ciljem optimalne primjene u kliničkoj praksi. Everolimus ispunjava preduvjete za TDM, ima uski terapijski raspon, visoku interindividualnu farmakokinetičku varijabilnost i dobru korelaciju između izloženosti lijeku i njegovog učinka. Minimalne koncentracije everolimusa u krvi (C<sub>0</sub>) pokazuju dobar odnos s ukupnom izloženošću, pružajući jednostavan i pouzdan parametar za upravljanje terapijom. Za mjerenje C<sub>0</sub> everolimusa treba koristiti uzorke pune krvi, a vremena uzorkovanja potrebno je standardizirati unutar jednog sata prije sljedeće doze te uzorkovanje provoditi u isto vrijeme svakoga dana i po mogućnosti bez konzumiranja hrane. Za analizu se koristi standardizirana validirana metoda tekućinske kromatografije spregnute s tandemnom spektrometrijom masa (engl. *liquid chromatography with tandem mass spectrometry*, LC-MS/MS). Preporučuje se korištenje certificiranih komercijalno dostupnih kalibratora pune krvi kako bi se izbjegla pogreška kalibracije te sudjelovanje u programima vanjske provjere kvalitete (70). Kada je mikofenolna kiselina prvotno stavljena na tržište imunosupresivne terapije, proizvođač je preporučivao fiksne doze. Svijest o potencijalu za personaliziranije doziranje

dovela je do razvoja metoda za mjerenje površine ispod krivulje za mikofenolnu kiselinu na temelju mjerenja koncentracija lijeka u nekoliko uzoraka između dva doziranja. Ovaj pristup je provediv u kliničkoj rutini i pokazao se uspješnim u pogledu korelacije s ishodom (71). Međutim, istražuju se mogućnosti za boljim korelacijama, te su objavljene brojne studije u koje su ispitivale biljege koji bi mogli bolje predvidjeti najprikladniju dozu za pojedinog bolesnika (72 - 76). S obzirom da ima vrlo malo novih imunosupresivnih lijekova u razvoju u području transplantacijske medicine, vjerojatno je da će mikofenolna kiselina i dalje biti propisivana u značajnom opsegu u nadolazećim godinama. Prekid terapije zbog nuspojava relativno je čest, povećavajući rizik od kasnih odbacivanja, što može doprinijeti gubitku presađaka. Stoga su nužne nove inovativne metode za bolje personalizirano doziranje mikofenolne kiseline (71).

#### **4.8. Ciljne koncentracije imunosupresiva**

U tablici 4. su prikazane ciljne koncentracije imunosupresiva ovisno o vremenu proteklom nakon transplantacije. U prvom mjesecu nakon transplantacije, koncentracija takrolimusa se održava između 12 – 15 ng/mL. Zatim se smanjuje na 10 – 15 ng/mL od drugog do šestog mjeseca te se na kraju šestog mjeseca rutinski održava unutar 5 – 10 ng/mL (30). Što se tiče ciklosporina, u prvom mjesecu nakon transplantacije održava se koncentracija 200 - 250 ng/mL, u periodu od dva do šest mjeseci nakon transplantacije 150 - 200 ng/mL, a zatim nakon šest mjeseci je ciljna koncentracija 100 - 150 ng/mL (77). Za mikofenolnu kiselinu ciljne koncentracije ne ovise o vremenu proteklom od transplantacije nego o stanju bolesnika. Ako je bolesnik stabilan bez znakova odbacivanja srca, ciljna koncentracija je 1,7 – 4 mg/L, dok kod bolesnika koji imaju nuspojave na terapiju treba ciljati donjoj granici (1,7 mg/L). Kod bolesnika koji imaju odbacivanje organa ciljna koncentracija je 2,5 – 4 mg/L (77). Everolimus primijenjen u terapiji zajedno sa takrolimusom ima ciljnu koncentraciju 3 – 8 ng/mL, a ako je primijenjen u monoterapiji ciljna koncentracija se održava na 6 – 10 ng/mL (78).

Tablica 4. Ciljne koncentracije imunosupresiva (30, 77, 78).

<b>LIJEK</b>	<b>VREMENSKI PERIOD NAKON TRANSPLANTACIJE</b>	<b>CILJNA KONCENTRACIJA U KRVI</b>	
TAKROLIMUS	< 1 mjesec	12 - 15 ng/mL	
	2 do 6 mjeseci	10 - 15 ng/mL	
	> 6 mjeseci	5 - 10 ng/mL	
CIKLOSPORIN	< 1 mjesec	200 – 250 ng/mL	
	2 do 6 mjeseci	150 – 200 ng/mL	
	> 6 mjeseci	100 – 150 ng/mL	
MIKOFENOLNA KISELINA		Stabilni bolesnici bez znakova odbacivanja	1,7 – 4 mg/L
		Bolesnici s odbacivanjem	2,5 – 4 mg/L
		Stabilni bolesnici koji imaju nuspojave na mikofenolnu kiselinu	1,7 mg/L
EVEROLIMUS		U kombinaciji s takrolimusom	3 – 8 ng/mL
		Samostalno u terapiji	6 - 10 ng/mL

## 4.9. Dostupnost informacija iz područja farmakogenetike

Mreža za istraživanje farmakogenomike (engl. *Pharmacogenomics Research Network*, PGRN) kroz svoje projekte nastoji osigurati potrebnu infrastrukturu koja podržava farmakogenetičko testiranje. Također, kroz otkrivanje i objašnjavanje na koji način određene genske varijacije utječu na učinkovitost / pojavnost nuspojava lijekova kod bolesnika nastoji približiti preciznu medicinu zdravstvenim djelatnicima. Baza znanja PharmGKB i PGRN Hub osnovani su kako bi koordinirali aktivnosti PGRN (18). PharmGKB je internetska baza podataka koja sadrži i organizira farmakogenetičke podatke za više od 650 lijekova. Preko 20 000 farmakogenetičkih varijanti, 3 000 kliničkih farmakogenetičkih anotacija i 100 smjernica o doziranju moguće je pretraživati prema lijeku, ciljnom genu ili farmakološkom putu (79). Također, postoje informacije o kliničkim smjernicama, odnosima genotipa i fenotipa povezanim s lijekovima te katalog farmakogenetičkih informacija uvrštenih u upute o lijeku od strane FDA, Europske agencije za lijekove (engl. *European Medicines Agency*, EMA) i Japanske agencije za lijekove i medicinska pomagala (80). Naime, od 2007. godine, FDA je identificirala gene / alele koji utječu na učinkovitost i toksičnost lijekova kao farmakogenetičke biljege te objavila popis od preko 100 lijekova s farmakogenetičkim informacijama u njihovim sažetcima opisa svojstava lijekova i izdala „*black box*“ upozorenja za neke od tih lijekova (18). Nadalje, društvo koje kliničarima omogućava razumijevanje farmakogenetičkog nalaza te daje smjernice o primjeni u praksi je konzorcij za implementaciju kliničke farmakogenetike (engl. *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*, CPIC). Konzorcij je razvijen kroz partnerstvo između PharmGKB-a i PGRN-a. Njihova mrežna stranica objavljuje recenzirane smjernice za kliničku praksu, utemeljene na dokazima za određene kliničke indikacije. Ove preporuke i smjernice razvijaju i ažuriraju članovi konzorcija te slijede standardizirani format koristeći formalne sustave ocjenjivanja dokaza. Smjernice su namijenjene pružanju racionalnih uputa i objašnjenja kako bi se olakšalo pravilno donošenje kliničkih odluka, odnosno kako bi se farmakogenetičko testiranje moglo integrirati u kliničku praksu. Ako su određeni genotipovi od interesa dostupni, algoritam pruža upute za doziranje na temelju genotipa. Ako genotipovi nisu dostupni, algoritam upućuje na doziranje prema kliničkim čimbenicima i nema preporuka za rutinsko farmakogenetičko testiranje. Preporuke o tome je li testiranje opravdano u kliničkoj praksi uglavnom dolaze iz stručnih skupina kliničara specijaliziranih za određena područja (81).

#### 4.10. Farmakogenomika takrolimusa

Većina farmakogenetičkih studija o takrolimusu u fokus je stavljala učinke varijanti u genima *CYP3A4*, *CYP3A5* i *ABCB1* zbog ključne uloge enzima i transportera koje oni kodiraju u dispoziciji takrolimusa. Osim toga, nekoliko studija je istražilo utjecaj SNP-ova unutar gena koji kodira X receptor za pregnan (*NR1I2*), koji regulira izražaj više gena, uključujući *CYP3A* i *ABCB1*. *CYP3A4\*22* (rs35599367) povezuje se s niskom ekspresijom *CYP3A4* i smanjenom aktivnosti enzima (82). Za *CYP3A4\*1B* (rs2740574) i dalje postoje dileme. Njegovu funkcionalnu važnost još treba istražiti, to jest utvrditi doprinosi li povećanoj transkripciji gena *CYP3A4* i povećanoj aktivnosti enzima CYP3A4. Utvrđeno je da homozigotni ili heterozigotni nositelji alela *CYP3A5\*1* imaju aktivan enzim CYP3A5 (ekspresori) te zahtijevaju povećanje doze takrolimusa, dok se većina populacije svrstava u nositelje alela *CYP3A5\*3*, odnosno nemaju funkcionalnu varijantu enzima CYP3A5 (neekspresori) (83). Apsorpcija takrolimusa odvija se pretežno putem P-glikoproteina (MDR1, ABCB1). Određeni polimorfizmi *ABCB1* su povezani sa smanjenom ekspresijom MDR1 u crijevima i posljedično višim koncentracijama takrolimusa u krvi. S druge strane, polimorfizmi povezani s povećanom ekspresijom MDR1 u crijevima rezultiraju nižim koncentracijama takrolimusa u krvi. Nakon niza provedenih istraživanja o utjecaju *ABCB1* polimorfizama na farmakokinetiku i farmakodinamiku takrolimusa, njihova uloga i učinak nisu razjašnjeni zbog nedosljednih rezultata studija (84, 85). Nadalje, 2013. godine su objavljeni prvi podatci o učincima *ABCC2* varijanti na farmakokinetiku takrolimusa. Gen *ABCC2* kodira protein MRP2, odnosno još jednog člana superporodice ABC transportera, koji lokaliziran u hepatocitima ima ulogu u bilijarnom transportu (86). Slično kao i za *ABCB1* polimorfizme, novije studije koje su proučavale utjecaj *ABCC2* varijanti na farmakokinetiku takrolimusa, dale su kontradiktorne podatke (85). Još jedan transporter se pokazao bitan za bilijarni transport, odnosno glavni put eliminacije takrolimusa. Naime, *SLCO1B1* kodira polipeptid OATP-C. U jednoj studiji je objavljena povezanost polimorfizma *SLCO1B1* rs2306283 s koncentracijama takrolimusa u krvi (87), a nedavno objavljena studija zaključila je da je *SLCO1B1* rs2291075 vjerojatno nova varijanta povezana s metabolizmom / transportom takrolimusa (88). Dodatno, nekoliko studija je istražilo SNP-ove u genu *POR*, koji kodira za CYP450 oksidoreduktazu, protein odgovoran za prijenos elektrona od NADPH do CYP450 enzima, omogućujući njihovu aktivnost (89). Nekoliko studija također je istražilo varijacije u genima *TGFB1*, *PPIA* i *CYP2C8*. CYP2C8 sudjeluje u metabolizmu arahidonske kiseline (AAs) u epoksieikosatrienoične kiseline (EET), metabolite koji su povezani s održavanjem normalne funkcije bubrega. Unatoč brojnim studijama, samo

je \*3 alel (rs776746) u genu *CYP3A5* pokazao snažne povezanosti s farmakokinetikom takrolimusa. Vrlo malo dosljednih dokaza pojavilo se za čimbenike koji utječu na farmakodinamiku takrolimusa. Općenito, nekonzistentnost ovih studija može biti povezana s etničkom varijabilnošću, malim brojem uključenih ispitanika, nespecifičnim farmakokinetičkim testovima, varijabilnostima u vremenu mjerenja ishoda i utjecajem genotipa donora. Veće studije i meta-analize koje uzimaju u obzir etničku pripadnost i genotip donora mogu pomoći u rješavanju nekih od tih varijabilnosti (41).

#### 4.11. Smjernice za doziranje takrolimusa

Stranica PharmGKB pruža informacije o odabiru doze takrolimusa izdane od strane nekoliko međunarodnih stručnih društava. Smjernice su objavili CPIC, DPWG, Kanadska mreža farmakogenomike za sigurnost lijekova (engl. *Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety*, CPNDS) i Francuska nacionalna mreža farmakogenetike (engl. *French National Network of Pharmacogenetics*, RNPgX). Također, udruga za farmakogenomiku FDA je izdala upute koje opisuju interakciju gen – lijek te skupinu bolesnika na koju se ta interakcija odnosi (90). U bolesnika koji su intermedijarni / normalni metabolizatori putem *CYP3A5*, a u terapiji imaju takrolimus, dokazane su niže sistemske koncentracije lijeka te manja vjerojatnost postizanja ciljnih koncentracija što može rezultirati većim rizikom odbacivanja presatka kao što je prikazano na slici 3.

##### FDA PGx Associations

CATEGORY	DRUG	GENE	AFFECTED SUBGROUP	INTERACTION DESCRIPTION
FDA	Tacrolimus	CYP3A5	intermediate or normal metabolizers	Results in lower systemic concentrations, lower probability of achieving target concentrations and may result in higher rejection risk. Measure drug concentrations and adjust dosage based on trough whole blood tacrolimus concentrations.

From the [FDA Table of Pharmacogenetic Associations](#):

Slika 3. FDA upute o interakciji gen - lijek za određenu skupinu bolesnika (90).



#### 4.11.1. Smjernice Konzorcija za implementaciju kliničke farmakogenetike (CPIC) za doziranje takrolimusa

Smjernice o korištenju farmakogenomskih testova u doziranju takrolimusa objavljene su u časopisu *Clinical Pharmacology and Therapeutics* od strane CPIC-a. Ove smjernice primjenjive su na bolesnike koji se podvrgavaju transplantaciji bubrega, srca, pluća ili hematopoetskih matičnih stanica. Primjenjive su i na bolesnike koji se podvrgavaju transplantaciji jetre gdje su genotipovi donora i primatelja *CYP3A5* identični. Također, primjenjive su za djecu i adolescente s barem jednim alelom *CYP3A5\*1*, s obzirom na to da se čini prikladnim povećanje doziranja za 1,5 do 2 puta, praćeno TDM-om prema preporukama za odrasle. U smjernicama je navedeno kako su koncentracije takrolimusa u krvi pod snažnim utjecajem genotipa *CYP3A5*, s obilnim dokazima koji povezuju genotip *CYP3A5* s fenotipskom varijabilnošću. U bolesnika koji su podvrgnuti transplantaciji bubrega, srca i pluća, u preko 50 studija pokazano je da pojedinci s genotipom *CYP3A5\*1/\*1* ili *CYP3A5\*1/\*3* imaju značajno niže koncentracije takrolimusa u krvi uz jednake doze lijeka u usporedbi s onima s genotipom *CYP3A5\*3/\*3*. Primatelji s ekstenzivnim ili intermedijarnim fenotipom metabolizma općenito će trebati povećanu dozu takrolimusa kako bi postigli terapijske koncentracije lijeka. Kao što je prikazano u tablici 5. preporučena je doza 1,5 - 2 puta veća od standardnog doziranja, ali ne veća od 0,3 mg/kg/dan, praćena TDM-om zbog rizika od arterijske vazokonstrikcije, hipertenzije i nefrotoksičnosti koji se mogu javiti kod suprateapijskih koncentracija takrolimusa. Dodatne rijetke varijante poput *CYP3A5\*2*, *\*8* i *\*9* mogu se pronaći, ali njihov je funkcionalni značaj nepoznat. Međutim, ukoliko je prisutna barem jedna kopija alela *\*1*, očekivani fenotip je intermedijarni metabolizator (91).

Tablica 5. CPIC preporuke za doziranje takrolimusa (90).

OČEKIVANI FENOTIP	GENOTIPOVI	PRIMJERI DIPLOTIPOVA	IMPLIKACIJE ZA FARMAKOLOŠKE MJERE	TERAPIJSKE PREPORUKE	KLASA PREPORUKE
Ekstenzivni metabolizator (CYP3A5 ekspresor)	Osoba koja nosi dva funkcionalna alela	*1/*1	Niže <i>trough</i> (ostatne) koncentracije za određenu dozu takrolimusa i smanjena vjerojatnost postizanja ciljnih koncentracija takrolimusa	Povećati početnu dozu 1,5 do 2 puta od preporučene početne doze Ukupna početna doza ne bi trebala premašiti 0,3 mg/kg/dan Koristiti terapijsko praćenje lijeka za prilagodbu doze	Jaka
Intermedijarni metabolizator (CYP3A5 ekspresor)	Osoba koja nosi jedan funkcionalni alel i jedan nefunkcionalni alel	*1/*3, *1/*6, *1/*7	Niže <i>trough</i> (ostatne) koncentracije za određenu dozu takrolimusa i smanjena vjerojatnost postizanja ciljnih koncentracija takrolimusa	Povećati početnu dozu 1,5 do 2 puta od preporučene početne doze Ukupna početna doza ne bi trebala premašiti 0,3 mg/kg/dan Koristiti terapijsko praćenje lijeka za prilagodbu doze	Jaka
Spori metabolizator (CYP3A5 neekspresor)	Osoba koja nosi dva nefunkcionalna alela	*3/*3, *6/*6, *7/*7, *3/*6, *3/*7, *6/*7	Više ("normalne") <i>trough</i> (ostatne) koncentracije za određenu dozu takrolimusa u krvi i povećana vjerojatnost postizanja ciljnih koncentracija takrolimusa	Započeti terapiju standardnom preporučenom dozom Koristiti terapijsko praćenje lijeka za prilagodbu doze	Jaka

#### **4.11.2. Smjernice Francuske nacionalne mreže farmakogenetike (RNPGx) za doziranje takrolimusa**

Preporuke za doziranje takrolimusa prema RNPGx-u odgovaraju onima objavljenima u smjernicama CPIC-a za takrolimus i CYP3A5, odnosno za osobe s genotipom *CYP3A5\*1/\*1* i *CYP3A5\*1/\*3* preporučuje se doza koja je 1,5 do 2 puta veća nego standardna doza za neekspresore, uz napomenu da je maksimalna doza 0,3 mg/kg/dan (92).

#### **4.11.3. Smjernice Nizozemske radne skupine za farmakogenetiku (DPWG) za doziranje takrolimusa**

Smjernice dijele osobe na CYP3A5 heterozigotne ekspresore i CYP3A5 homozigotne ekspresore. Dakle, preporuka za doziranje takrolimusa kod heterozigotnih ekspresora je korištenje 1,5 puta veće doze od standardne doze te nadzor koncentracije lijeka u krvi pomoću TDM-a. Nadalje, za homozigotne ekspresore je preporučena 2,5 puta veća doza od standardne uz daljnju prilagodbu prema izmjerenim koncentracijama lijeka uz TDM (93).

### **4.12. Uporaba diltiazema u svrhu smanjenja doze takrolimusa**

Studija provedena 2020. godine je promatrala utjecaj istovremenog korištenja diltiazema i takrolimusa kod bolesnika nakon transplantacije srca u pogledu potrebne doze takrolimusa te troškova liječenja (94). U 17 ispitanika serumske razine takrolimusa mjerene su svaka dva tjedna te su uspoređene potrebne doze prije i nakon uvođenja diltiazema. Također su procijenjeni troškovi lijekova na temelju standardizirane maloprodajne cijene propisane od strane regulatora. Prosječna potrebna doza takrolimusa prije uvođenja diltiazema iznosila je  $5,85 \pm 1,55$  mg. Nakon uvođenja diltiazema, prosječne potrebne doze smanjene su na  $2,88 \pm 1,24$  mg ( $p < 0,0001$ ). Potrebne doze smanjene su za  $52,4 \pm 10,9$  % - neovisno o dobi, spolu i dozi diltiazema. Mjesečni troškovi lijekova smanjeni su za  $50,3 \pm 10,4$  % (94). Mehanizam koji objašnjava korištenje nižih doza takrolimusa temelji se na farmakokinetičkoj interakciji diltiazema i takrolimusa. Diltiazem, nedihidropiridinski blokator kalcijevih kanala, inhibira aktivnosti enzima CYP3A i transportera P-gp (95). U studiji provedenoj na bolesnicima nakon transplantacije bubrega uzeto je u obzir jesu li bolesnici ekspresori ili neekspresori CYP3A5. Kada su uspoređene skupine s istim genotipom, nije pronađena značajna razlika između onih koji su primili vrlo nisku dozu diltiazema (60 mg dnevno) i onih koji nisu, kako u usporedbi

između skupina ekspresora CYP3A5 tako i između skupina neekspresora. Međutim, čini se da su CYP3A5 ekspresori koji nisu primili diltiazem imali značajno nižu koncentraciju lijeka u krvi ovisno o dozi od onih u obje skupine CYP3A5 neekspresora. S druge strane, u skupini CYP3A5 ekspresora koja je primila diltiazem nije uočena razlika u odnosu na niti jednu od skupina CYP3A5 neekspresora. Prikazani rezultati ukazuju da niska doza diltiazema utječe, odnosno povećava izlaganje takrolimusu kod CYP3A5 ekspresora stoga se može smanjiti potrebna doza takrolimusa takvoj skupini bolesnika. Nisu uočeni značajni učinci diltiazema na krvni tlak kod bolesnika uključenih u studiju (95). Iz navedenih primjera moguće je zaključiti kako ovakav pristup temeljen na interakciji diltiazema i takrolimusa uz stalan nadzor bolesnika može sigurno, učinkovito i predvidivo smanjiti potrebnu dozu takrolimusa i značajno smanjiti povezane troškove.

#### **4.13. Prikaz kliničkog slučaja**

Prikaz slučaja opisuje bolesnika s Klinike za bolesti srca i krvnih žila KBC Zagreb s transplantiranim srcem kod kojega je ozbiljni terapijski problem predstavljala nemogućnost postizanja ciljnih koncentracija takrolimusa u krvi. Prikazom i tumačenjem detaljnog opisa farmakogenetičkog nalaza objasniti će se u nastavku razlog nemogućnosti postizanja ciljnih koncentracija takrolimusa te način na koji je navedeni problem riješen. Također, prikazat će se upute i preporuke sadržane u smjernicama stručnih društava za odabir odgovarajuće doze takrolimusa u personaliziranom pristupu liječenja bolesnika s transplantiranim srcem.

##### **4.13.1. Anamneza bolesnika**

Bolesnik star 54 godine s dugogodišnjom ishemijskom bolesti srca koji je ranije prebolio dva infarkta miokarda liječenih s perkutanom koronarnom intervencijom i aortokoronarnim premoštenjem obrađivan je u Klinici za bolesti srca i krvnih žila KBC-a Zagreb radi odluke o daljnjem liječenju. Od ranije je nositelj i kardioverter defibrilatora. Zbog sklonosti hipotenziji nije postojala mogućnost optimiziranja medikamentne terapije (empagliflozin (10 mg 1+0+0), furosemid (250 mg 1+0+0), eplerenon (50 mg 0+1+0), ivabradin (2,5 mg 1+0+1), acetilsalicilna kiselina (100 mg 0+1+0), rosuvastatin (40 mg 0+0+1), ezetimib (10 mg 0+0+1), kalijev citrat, oksazepam (po potrebi)). U trenutku prijema na Kliniku bolesnik je bio značajno narušenog funkcijskog statusa uz kliničke znakove globalnog srčanog popuštanja sa značajno povišenom

koncentracijom markera srčanog popuštanja (NTproBNP 5623 ng/L). UZV-om srca opisana je teška dilatacija lijeve klijetke s teško reduciranom globalnom sistoličkom funkcijom (EF 20 %) i restriktivnim tipom dijastoličke disfunkcije, dok je desna klijetka također bila dilatirana s narušenom funkcijom (TAPSE (engl. *tricuspid annular plane systolic excursion*) 8-9 mm, FAC (engl. *fractional area change*) 20-25 %) te dilatirana oba atrija uz srednje tešku mitralnu insuficijenciju i umjerenu trikuspidalnu insuficijenciju s plućnom hipertenzijom (mPAP (engl. *mean pulmonary arterial pressure*) 37 mmHg). Desnostranom kateterizacijom srca ustanovljeni su povišeni tlakovi punjenja desne klijetke, teška plućna hipertenzija i visoke vrijednosti tlaka punjenja lijeve klijetke. Srčani indeks bio je značajno narušen (CI (engl. *cardiac index*) 1.1 L/min/1,73m<sup>2</sup>), a parametri plućne vaskularne rezistencije i transpulmonalnog gradijenta prihvatljivi (PVR (engl. *pulmonary vascular resistance*) 3.8 WU, TPG (engl. *transpulmonary pressure gradient*) 9 mmHg). Navedena mjerenja su učinjena i nakon dobutaminske potpore, no bila su bez značajnijih promjena. S obzirom na anamnezu, klinički pregled, nalaze učinjene obrade, nemogućnosti optimizacije medikamentne terapije i iscrpljeno konvencionalno kirurško liječenje, bolesniku je indicirana transplantacija srca te je učinjena široka predtransplantacijska obrada, prilikom koje nisu pronađene kontraindikacije za planiranu transplantaciju srca.

#### **4.13.2. Postoperativni tijek**

Bolesnik je mjesec dana od upisa na hitnu listu Eurotransplanta dobio ponudu kompatibilnog donorskog organa. Uspješno je učinjena ortotopična transplantacija srca bikavalnom tehnikom. Iz ranog postoperativnog perioda za izdvojiti je provođenje imunoadsorpcije zbog senzibilizacije uz primjenu specifičnih imunoglobulina protiv citomegalovirusa. U laboratorijskim nalazima bilježila se blaga trombocitopenija. Tijekom postoperativnog oporavka pratila se protrahirana sekrecija na pleuralne drenove, a nakon vađenja drenova ultrazvučno su se pratili obostrani pleuralni izljevi uz jednokratnu evakuaciju lijevostranog pleuralnog izljeva. Ultrazvukom srca opisana je očuvana funkcija blago hipertrofične lijeve klijetke (EF 60 %) te desna klijetka normalne veličine i blago reducirane longitudinalne funkcije. Nultom koronarografijom opisano je blago suženje LMCA (engl. *left main coronary artery*). Opetovanim PCR (engl. *polymerase chain reaction*) kontrolama nisu dokazani CMV ni EBV DNA. Biopsijom miokarda opisano je stanično odbacivanje stupnja 1R (1a), bez znakova humoralnog odbacivanja. U idućim redovitim biopsijama stupanj staničnog odbacivanja je bio 0, bez znakova humoralnog odbacivanja. Prilikom zadnje hospitalne

evaluacije, devet mjeseci nakon transplantacije, bolesnik je očuvanog funkcijskog kapaciteta i bez tegoba. Ultrazvučno je opisana uredna funkcija srčanog presatka. Radiološki je opisan uredan intratorakalni status, bez pleuralnih izljeva. Biljeg srčanog popuštanja je bio blago povišen (NTproBNP 448 ng/L).

Govoreći o imunosupresiji koju je bolesnik primio nakon transplantacije srca, prvih pet dana korišten je indukcijski protokol koji uključuje intravenski metilprednizolon (SoluMedrol®), ATG (Thymoglobulin®) i mikofenolat mofetil uz odgovarajuću premedikaciju. Thymoglobulin je primjenjivan u dozi od 1,5 mg/kg, a SoluMedrol se nakon početne doze od 500 mg nastavio primjenjivati u dvije dnevne doze od 60 mg. Doza mikofenolat mofetila u prvih pet dana iznosila je 500 mg dva puta dnevno te je povećana na 1 g dva puta dnevno nakon uvođenja takrolimusa, uz praćenje kompletne krvne slike. Također, nakon uvođenja takrolimusa, parenteralni oblik glukokortikoida zamijenjen je oralnim prednizonom u dozi od 40 mg, koji se s vremenom smanjivao.

Terapijski problem kod ovog bolesnika predstavljalo je postizanje ciljne koncentracije takrolimusa koji je u terapiju uveden šesti dan nakon transplantacije srca. Prvih mjesec dana nakon transplantacije ciljne doze takrolimusa iznosile su između 12 i 15 ng/L. Koncentracija lijeka bila je ispod željenog raspona unatoč svakodnevnom povećavanju doze. Zatraženo je farmakogenetičko testiranje kako bi se razjasnio problem nemogućnosti postizanja željenih koncentracija takrolimusa uz primjenu standardnih doza lijeka.

### 4.13.3. Nalaz farmakogenetičke analize i preporuke doziranja prema genotipu i fenotipu bolesnika

U tablici 6. je prikazan nalaz farmakogenetičke analize bolesnika.

Tablica 6. Nalaz farmakogenetičke analize bolesnika.

GEN – ALEL	GENOTIP	FENOTIP	KOMENTAR
<i>CYP2C9</i> *2, *3	*1/*1	Normalni metabolizam – NM	Potpuna aktivnost enzima
<i>VKORC1</i> 1173C>T	C/T	Intermedijarna aktivnost enzima	Manja aktivnost enzima
<i>CYP2C19</i> *2, *17	*2/*17	Intermedijarni metabolizam – IM	Manja aktivnost enzima Moguće veće koncentracije lijekova supstrata <i>CYP2C19</i> uz pojačan farmakološki učinak te povećan rizik razvoja nuspojava Slabija konverzija predlijekova koji koriste <i>CYP2C19</i> u njihov aktivni oblik te manja djelotvornost
<i>CYP3A4</i> *1B, *22	*1/*1	Normalni metabolizam – NM	Potpuna aktivnost enzima
<i>CYP3A5</i> *3	*1/*3	Intermedijarna aktivnost – ekspresija enzima	Brži metabolizam lijekova zbog intermedijarne ekspresije/aktivnosti enzima u odnosu na uobičajeni nedostatak aktivnosti enzima <i>CYP3A5</i> u populaciji
<i>NAT2</i> *4, *5, *6, *7	*5/*7	Slaba aktivnost enzima	Manja aktivnost enzima spori acetilacijski fenotip <i>NAT2</i> zbog čega se očekuje sporija acetilacija lijekova supstrata <i>NAT2</i>
<i>ABCB1</i> ( <i>MDR1</i> ) c.3435C>T	C/T	Intermedijarna funkcija	Intermedijarna transportna funkcija proteina P-glikoproteina
<i>ABCG2</i> c.421C>A	C/C	Normalna funkcija	Potpuna, normalna transportna funkcija proteina <i>ABCG2</i> ( <i>BCPR</i> )
<i>MRP2</i> ( <i>ABCC2</i> ) c.-24C>T <i>MRP2</i> ( <i>ABCC2</i> ) C.1249G>A	C/C G/A	Intermedijarna funkcija	Moguća produljena bioraspoloživost lijekova supstrata <i>ABCC2</i>
<i>SLCO1B1</i> *5 (c.521T>C)	*1/*1	Normalna funkcija	Normalna transportna funkcija proteina <i>SLCO1B1</i> ( <i>OATP1B1</i> )
<i>UGT1A1</i> *28	*28/*28	Slaba aktivnost enzima	Znatno manja ili odsutna aktivnost enzima <i>UGT1A1</i> Spori metabolizator/inaktivator lijekova supstrata <i>UGT1A1</i> Homozigotni nositelj alela smanjene aktivnosti <i>UGT1A1</i> *28, (nekonjugirana hiperbilirubinemija – Glibertov sindrom)
<i>UGT2B7</i> c.-161C>T	C/T	Supstrat specifična aktivnost	Ovisno o primijenjenom lijeku i dobi
<i>5-HTTLPR</i> (LA, LG, S)	L <sub>A</sub> /S <sub>A</sub>	Intermedijarna aktivnost	Smanjena ekspresija serotoninskog transportera
<i>DRD2</i> (Taq1) A1, A2	A <sub>2</sub> /A <sub>2</sub>	Visoka aktivnost	Normalna visoka aktivnost dopaminskog transportera <i>DAT1</i> ( <i>SLC6A3</i> )

Preporuke doziranja prema nalazu genotipizacije za bolesnika su sljedeće:

- Prosječne doze antikoagulantih lijekova kumarinskog tipa te prosječne doze drugih lijekova supstrata CYP2C9
- Prosječne ili nešto manje doze lijekova supstrata CYP2C19 u slučaju da nisu predlijekovi
- Prosječne doze lijekova supstrata CYP3A4, ovisno i o konkomitantnoj terapiji
- Prosječne do veće doze lijekova supstrata CYP3A5
- Manje doze lijekova supstrata NAT2
- Potreban je oprez kod primjene lijekova supstrata UGT1A1
- Prosječne doze lijekova supstrata P-glikoproteina (ABCB1/MDR1), ovisno i o konkomitantnoj terapiji
- Opaziti prilikom primjene lijekova supstrata transportnog proteina MRP2 (ABCC2) zbog umjerene genetičke predispozicije za produljenu bioraspodjeljivost i/ili nuspojave lijekova
- Prosječne doze lijekova supstrata transportnog proteina SLCO1B1 (OATP1B1), ovisno i o konkomitantnoj terapiji

#### 4.13.4. Izazovi u odabiru odgovarajuće doze takrolimusa

Prema nalazu farmakogenetičkog testiranja za prikaz ovog slučaja najbitnije je izdvojiti kako je bolesnik normalan metabolizator lijekova – supstrata CYP3A4 zbog potpune aktivnosti enzima CYP3A4. Također, ima brži metabolizam lijekova – supstrata CYP3A5 zbog intermedijarne ekspresije / aktivnosti enzima CYP3A5 (ekspresor enzima) u odnosu na uobičajeni nedostatak aktivnosti enzima CYP3A5 u bjelačkoj populaciji. Dakle, prema ovoj kombinaciji genotipova *CYP3A4* i *CYP3A5* bolesnik je normalni metabolizator lijekova – supstrata CYP3A odnosno ima brži metabolizam lijekova – supstrata CYP3A od populacije s uobičajenim intermedijarnim fenotipom metabolizma CYP3A. Genotip *CYP3A5* \*1/\*3 opisuje osobu koja nosi jedan funkcionalni alel i jedan nefunkcionalni alel. Preporuke od strane CPIC za takav genotip su povećanje početne doze za 1,5 do 2 puta u odnosu na standardnu dozu. Ukupna dnevna doza ne smije premašiti 0,3 mg/kg/dan. U tablici 7. prikazane su doze takrolimusa i mikofenolat mofetila, kao i koncentracije utvrđene TDM-om. Standardna doza za odrasle nakon transplantacije srca obično iznosi 0,075 mg/kg/dan podijeljeno u dvije dnevne doze što bi u slučaju ovog bolesnika teškog 98 kg bilo 7,35 g, odnosno 3,675 g u jednoj dozi.



Na tržištu su dostupne tvrde kapsule takrolimusa s trenutnim oslobađanjem od 0,5 mg, 1 mg i 5 mg pod trgovačkim imenom Prograf®, stoga je početna doza od 3,5 mg dva puta na dan opravdana. Sljedeći korak u postizanju željenih koncentracija takrolimusa bio je povećanje doze prema smjernicama. Doza je povećana dva puta u odnosu na početnu, odnosno na 7 mg dva puta na dan. Konačno, u terapiju je dodan inhibitor CYP3A4 diltiazem u dozi 60 mg dva puta dnevno. Nakon provedenih intervencija u terapiji, koncentracija takrolimusa se počela približavati ciljnom rasponu. Koncentracije u tablici navedene uz uskličnik označavaju vrijednosti dobivene mjerenjem pomoću imunokemijske metode koja se u KBC Zagreb koristi tokom vikenda. Ona za razliku od standardne LC-MS/MS metode korištene radnim danima pokazuje 20-30 % veće vrijednosti. Koncentracije označene crvenom bojom odnose se na one ispod željenog intervala vrijednosti, dok su plavom bojom označene koncentracije iznad željenog intervala vrijednosti. Zelenom bojom je označen dan kada je zatražena farmakogenetička analiza. Na zadnjoj reevaluaciji, koncentracija takrolimusa je bila unutar ciljnog raspona koncentracija s obzirom na vrijeme proteklo od transplantacije, odnosno 5-10 ng/L. Bolesnik je generalno dobro, bez novih kardijalnih tegoba, bez znakova odbacivanja transplantata te očuvanog funkcijskog kapaciteta što potvrđuju i tada provedene pretrage (ultrazvuk srca, biopsija miokarda, razina biljega srčanog popuštanja i laboratorijski nalazi). Nema oticanja nogu, nema bolova u prsima i napor podnosi izvrsno. Tlak u samokontroli je uredan (120/90 mmHg), ali je broj otkucaja srca ponekad povećan (100/min). Appetit, stolica i mokrenje su uredni uz stabilnu tjelesnu masu. Bolesnik ne puši i ne konzumira alkohol. Do sljedeće kontrole je otpušten uz preporučenu terapiju: takrolimus (6,5+0+6,5 mg), mikofenolat mofetil (1,5+0+1,5 g), prednizon (15 mg 1+0+0), aciklovir (400 mg 1+0+1), sulfometoksaol+trimetoprim (960 mg 1+0+0 pon-sri-pet), folna kiselina (5 mg 1+0+1), vitamin D3 kapi (0+5+0), mikonazol oralni gel (nakon svakog obroka), pantoprazol (40 mg 1+0+0), acetilsalicilna kiselina (100 mg 0+1+0), rosuvastatin/ezetimib (40/10 mg 0+0+1), diltiazem (90 mg 1+0+1), inklisiran (284 mg po shemi).

Tablica 7. Doze lijekova te koncentracije izmjerene TDM-om.

VRIJEME NAKON Htx	DOZA TAC (mg)	KONCENTRACIJA TAC (µg/L)	DOZA MMF (g)	KONCENTRACIJA MPA (mg/L)	DOZA DILTIAZEMA (mg)
6. dan	3,5+0+3,5	1,5!	1+0+1		
7. dan	3,5+0+3,5	1,2	1+0+1		
8. dan	3,5+0+3,5	1,9	1+0+1		
9. dan	3,5+0+3,5	3,2	1+0+1		
10. dan	3,5+0+3,5	3,7	1+0+1		
11. dan	3,5+0+3,5	3,5	1+0+1		
12. dan	3,5+0+3,5	3,9	1+0+1		
13. dan	4,5+0+4,0	9,4	1+0+1	1,4	
14. dan	4,0+0+5,0	4,2	1+0+1		
15. dan	5,0+0+5,0	3,2!	1+0+1		
16. dan	5,0+0+6,0	3,7!	1+0+1		
17. dan	6,0+0+6,0	4,6	1+0+1	1,6	
18. dan	6,5+0+6,5	8,2	1+0+1		
19. dan	6,5+0+7,5	4,8	1+0+1		60
20. dan	7,0+0+7,0	5,6!	1+0+1		60
21. dan	7,0+0+7,5	5,6	1+0+1	1,2	60
22. dan	7,0+0+7,5	15,8!	1+0+1		60
23. dan	7,5+0+7,5	8,3!	1+0+1		60+0+60
24. dan	7,5+0+6,5	22,9	1+0+1	1,1	60+0+60
25. dan	7,0+0+7,0	11,3	1+0+1		60+0+60
26. dan	7,0+0+7,0	11,6	1+0+1		60+0+60
27. dan	7,0+0+7,0	11,8	1+0+1		60+0+60
28. dan	7,0+0+6,0	16,7	1+0+1		60+0+60
29. dan	6,5+0+7,0	10,7!	1+0+1		60+0+60
2 mjeseca	7,0+0+7,0	13,6	1,5+0+1,0	1,8	60+0+60
4 mjeseca	7,5+0+7,0	7,8	1,5+0+1,0	1,7	90+0+90
6 mjeseci	7,5+0+7,0	11,2	1,5+0+1,5	2,4	90+0+90
9 mjeseci	6,5+0+6,5	8,4	1,5+0+1,5	1,3	90+0+90

HTx – transplantacija srca; MMF – mikofenolat mofetil; MPA – mikofenolna kiselina; TAC – takrolimus; TDM – terapijsko praćenje lijekova; datum označen zelenom bojom – zatražena farmakogenetička analiza; koncentracije navedene uz uskličnik - vrijednosti 20-30 % veće vrijednosti zbog mjerenja imunokemijskom metodom umjesto standardne LC-MS/MS metode; koncentracije označene crvenom bojom - ispod željenog intervala vrijednosti; koncentracije označene plavom bojom - iznad željenog intervala vrijednosti.

## 5. RASPRAVA

### 5.1. Pregled i učestalost polimorfizama *CYP3A*

*CYP3A* je dobro istražena obitelj gena povezanih s fazom I metabolizma i sastoji se od četiri gena: *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7* i *CYP3A43* koji se nalaze u rasponu od 231 kb kromosoma 7q21.1 (96). Brojne studije pokazale su da su učestalosti polimorfizama *CYP3A4* i *CYP3A5* različite, te ovisne o etničkoj i rasnoj pripadnosti. Studija iz 2013. godine imala je za cilj identificirati polimorfizme *CYP3A4/5* i usporediti distribucije genotipova između pet etničkih skupina. Provedeno je sekvenciranje 288 uzoraka DNA kako bi se identificirala učestalost *CYP3A4/5* SNP-ova u skupini koja je uključivala 96 Koreanaca, 48 Amerikanaca europskog podrijetla, 48 Afroamerikanaca, 48 Han Kineza i 48 Japanaca. Rezultati su pokazali da su učestalosti minornih (rjeđih) alela u korejskoj populaciji bile slične onima u japanskoj i kineskoj populaciji, dok su postojale značajne razlike u odnosu na Amerikance europskog podrijetla i Afroamerikance. Među farmakogenetičkim biljezima učestalosti varijante *CYP3A4\*1B* (rs2740574) i *CYP3A5\*3C* (rs776742) u azijskim populacijama bile su najniže (> 1 %) u odnosu na druge populacije (97). Prema podacima iz *1000 Genomes* projekta varijanta *CYP3A4\*1B* u afričkoj populaciji zabilježena je u 76 % slučajeva, dok su pripadnici europske populacije bili nositelji te varijante u 3 % slučajeva (98). Poznato je da alel *CYP3A4\*22* (rs35599367) igra važnu ulogu u smanjenom izražaju i aktivnosti jetrenog enzima *CYP3A4*, kao i u promjeni metabolizma statina, takrolimusa i ciklosporina. Prema bazi podataka Nacionalnog centra za biotehnoške informacije (engl. *National Center for Biotechnology Information*, NCBI), polimorfizam ima prevalenciju oko 2,5 % u pripadnika bijele rase. Stoga, neotkrivanje ovog polimorfizma može biti posljedica niske prevalencije alela u određenim populacijama (97).

Izražaj gena *CYP3A5* vrlo je varijabilan, pri čemu se prema različitim izvorima bilježi 25 alelnih varijanti *CYP3A5* (aleli označeni \*1–9). Najčešća nefunkcionalna varijanta *CYP3A5* označena je kao *CYP3A5\*3* (rs776746), predstavlja supstituciju 6986A>G u intronu 3. Ovaj SNP zbog preuranjenog zaustavljanja translacije dovodi do sinteze skraćenoga, krnjeg enzima. Homozigotni i heterozigotni nositelji divljeg tipa alela *CYP3A5\*1* stvaraju normalne ili neznatno reducirane razine *CYP3A5* mRNA i imaju slične razine funkcionalnog proteina (te se osobe nazivaju ekspresori *CYP3A5*). Nasuprot njima, homozigotni nositelji varijantnog alela

*CYP3A5\*3* imaju vrlo niske ili nemjerljive razine funkcionalnog proteina (neekspresori *CYP3A5*) (99).

U 3 – 15 % pripadnika bijele rase je enzim *CYP3A5* aktivan (nositelji alela *\*1*, ekspresori), dok je učestalost aktivnog enzima 30 % u azijskim te 65 – 85 % u afričkim populacijama (99).

Važan farmakogenetički aspekt je *linkage disequilibrium* (LD) između određenih *CYP3A* alela, odnosno činjenica da se aleli pojavljuju zajedno češće nego što bi se moglo objasniti slučajnošću zbog njihove fizičke blizine na kromosomu. Genetička veza na lokusu *CYP3A* je od ranije poznata i opisana, a u studiji koja je promatrala potrebne doze takrolimusa nakon transplantacije srca ovisno o *CYP3A* statusu bolesnika, pokazana je značajna povezanost (LD) jednonukleotidnih polimorfizama *CYP3A4\*1B* i *CYP3A5\*1* (rs2740574 i rs776746) (100).

Zanimljivo je uočiti kako je bolesnik, koji je prikazan u kliničkom slučaju ovog rada, nositelj genotipa *CYP3A5\*1/\*3*, ali *CYP3A4\*1/\*1*. U njegovom slučaju se nije pokazao LD koji je opisan i potvrđen u brojnim prijašnjim istraživanjima.

## 5.2. Razvoj farmakogenetike u modernoj medicini

Koncept personalizirane medicine učinio je farmakogenetiku ključnom temom. Personalizirana medicina odnosi se na područje zdravstva gdje se sve informacije o bolesniku, odnosno njegova jedinstvenost, koriste za donošenje terapijskih odluka. Te informacije uključuju genetički profil, kvalitetu života i okolišne čimbenike. Kako bi se postigao što bolji ishod terapije kod bolesnika, korištenje farmakogenetičkih analiza postaje sve prisutnije u kliničkoj praksi. Stoga se javlja potreba da se kliničari i drugi zdravstveni djelatnici bolje upoznaju s mogućnostima koje pruža farmakogenetika (18). Farmakogenetički rezultati sve više postaju dio medicinske dokumentacije bolesnika. Kada rezultat genetičkog testa postane dijelom trajne medicinske dokumentacije bolesnika, može poslužiti za sve lijekove koji su povezani s genom za koji je provedena analiza. Ovi zapisi ostaju relevantni za cijeli život bolesnika. Da bi se omogućilo stvaranje preporuka za uvođenje farmakogenetičkih testiranja u rutinsku praksu, potrebna je ekonomska evaluacija istih. Nužna je nepristranost i postavljanje jasnih kriterija evaluacije kako bi se mogla procijeniti točna klinička korist i vrijednost testiranja. Zdravstvena korist je zasigurno najveća kod pojedinaca kojima se na temelju

farmakogenetičkog nalaza odlučuje isključiti lijek ili promijeniti dozu lijeka i tako izbjeći potencijalno ozbiljne nuspojave ili neučinkovitost (101).

U studiji (*Pre-emptive Pharmacogenomic Testing for Preventing Adverse Drug Reactions, PREPARE*) objavljenoj 2023. godine koja je uključivala 7 000 odraslih osoba pokazano je da uporaba preventivnog farmakogenomskog testiranja za odabir doze lijeka može za otprilike 30 % smanjiti učestalost nepoželjnih reakcija na lijekove u odnosu na odabir doze prema kliničkim pokazateljima. Testni panel se sastojao od 50 varijanti u 12 gena koji reguliraju metabolizam lijekova, odabranih prema preporukama Nizozemske farmakogenetičke radne skupine (engl. *Dutch Pharmacogenetics Working Group, DPWG*). Dodatni podaci iz PREPARE studije su pokazali kako je kod 94 % sudionika identificirana barem jedna genska varijanta koja ima značajnu ulogu, a mnogi sudionici su imali dvije ili tri takve identificirane varijante. Sveukupno 25 % sudionika je imalo genetičku varijantu koja je bila značajna za propisani lijek. Najveći broj ozbiljnih reakcija / nuspojava zabilježen je u populaciji bolesnika koji su bolovali od maligne bolesti te primali visoke doze kemoterapije. Općenito, najčešći referentni lijek bio je atorvastatin, zatim klopidogrel i takrolimus. Postotak usvajanja preporuka DPWG-a bio je otprilike 70 % na temelju saznanja iz farmakogenetičkog testiranja (102).

### **5.3. Izazovi i rješenja implementacije rutinskog farmakogenetičkog testiranja**

Uočava se napredak u integraciji farmakogenetičkih testiranja u kliničku praksu, ali zaostaje za napretkom u drugim genetičkim područjima. Implementacija farmakogenetike u kliničkom okruženju ima mnogo izazova. Neki od najvažnijih izazova uključuju, ali nisu ograničeni na, slabo razumijevanje kliničke koristi farmakogenetičkog testa od strane kliničara, nedostatak povjerenja u valjanost genetičkih testova, teškoće u tumačenju rezultata testa, sposobnost pronalaženja alternativnog liječenja te troškove genetičkih testova (103).

CPIC, DPWG i druga društva su značajno pridonijela rješavanju problema nedovoljnog razumijevanja kliničke koristi farmakogenetičkog testa od strane zdravstvenih djelatnika. Kao što je ranije opisano, upute i smjernice koje izdaju ova specijalizirana društva za implementaciju kliničke farmakogenetike postaju vrijedna i lako dostupna baza podataka koja se sve više koristi. Vrlo su vrijedne genetičke informacije dostupne na mrežnim stranicama FDA koje sadrže niz genomskih biljega s definiranim ulogama u varijabilnosti farmakoterapije. Mrežna

stranica je ažurirana 2020. godine kako bi uključila preporuke udruženja za koje je FDA procijenila da sadrže dovoljno znanstvenih dokaza. Dokazi i preporuke udruženja su podijeljeni u tri skupine: 1) farmakogenetičke preporuke koje se mogu zbog dovoljno dokaza primijeniti u praksi za upravljanje farmakoterapijom, 2) farmakogenetičke preporuke čiji podaci ukazuju na potencijalni utjecaj na sigurnost ili učinkovitost, 3) farmakogenetički dokazi temeljeni na podacima koji pokazuju potencijalni utjecaj na farmakokinetička svojstva, ali ne i na ishode liječenja (26). Kako bi se našla alternativna rješenja za probleme neučinkovitosti terapije u određenim bolestima ili stanjima, Nacionalni institut za zdravlje (engl. *National Institutes of Health*, NIH) financirao je projekt eMERGE-PGx. Ovaj projekt koristi elektroničke medicinske zapise i istraživačku infrastrukturu zdravstvenih sustava kako bi započelo preventivno farmakogenetičko testiranje za procjenu kliničkih ishoda (104). U svrhu procjene financijskih aspekata ovakvog pristupa, razvijen je model koji procjenjuje koliki bi bio utjecaj financijskih troškova korištenja hipotetskog farmakogenetičkog testa za odabir početne terapije. U ovom modelu, nazvanom "*Test All*", više bolesnika bi se kvalificiralo za jeftinije testiranje. Prema osnovnom scenariju (gdje je prevalencija određenih genetičkih karakteristika 15 %, trošak testa je 200 američkih dolara, terapija prvog reda ima 74 % učinkovitosti, a terapija drugog reda 60 %), uštede po bolesniku kreću se od 200 do 767 američkih dolara. Troškovi samih testova genskih varijanti i troškovi odabira pogrešnih terapija su ključni čimbenici u ekonomskoj održivosti farmakogenomike u kliničkoj praksi. Ukratko, za skup bolesnika s genetičkim osobinama koje su relativno česte, trošak početnog testiranja svih bolesnika vjerojatno je manji ili jednako učinkovit kao i trošak drugih terapijskih opcija. Ovaj ekonomski benefit dodatna je individualna korist za bolesnika, koja osigurava veći uspjeh u liječenju u odnosu na rizike (103).

#### **5.4. Smjernice za rutinsko farmakogenetičko testiranje prije početka terapije takrolimusom**

Prema smjernicama RNPGx-a za *CYP3A4*, *CYP3A5* i takrolimus preporučuje se testiranje za alele *CYP3A5*\*3 i *CYP3A4*\*22 prije postupaka transplantacije bubrega, srca i pluća. RNPGx preporučuje genotipizaciju za *CYP3A5* u svim slučajevima prije transplantacije bubrega, srca i pluća, a time i prije konačnog odabira imunosupresivnog lijeka koji će se koristiti. Za genotipizaciju *CYP3A5*, preporuke RNPGx-a u skladu su s međunarodnim smjernicama za takrolimus objavljenima od strane CPIC-a i testiranje se preporučuje. Premda se smatra potencijalno korisnim testom, dodatan doprinos nalaza genotipizacije *CYP3A4* (*CYP3A4*\*22)

za prilagodbu početne doze takrolimusa još treba procijeniti. Prema RNPGx-u retrospektivno provedena genotipizacija *CYP3A5* smatra se potencijalno korisnom, jer bi objasnila potrebu za povećanom dozom takrolimusa. Prema RNPGx-u, retrospektivna analiza *CYP3A4\*22* također se smatra potencijalno korisnom kako bi se objasnila potreba za smanjenjem doze takrolimusa ili drugih imunosupresivnih agenasa podložnih metabolizmu putem enzima *CYP3A4* (92). Predložena klasifikacija razine preporuka farmakogenetičkog testiranja prema genotipizaciji „potencijalno koristan test“, definira se kao 'dokazana ili vjerojatna funkcionalnost'. Za klasifikaciju „vjerojatan utjecaj“ treba biti dokazan utjecaj na klinički fenotip ili na posredni (ne-klinički) fenotip koji je doveo do stručnog konsenzusa u korist testiranja, razmatrajući svaki pojedinačni slučaj, ovisno o kliničkom kontekstu (neočekivani odgovor na lijek, specifična bolest) (105). Iako je razina dokaza još uvijek niska, genotipizacija *CYP3A4* preporučuje se zajedno s genotipizacijom *CYP3A5* radi bolje predikcije metaboličkog statusa svakog bolesnika (92). Tome doprinosi i *linkage disequilibrium* između *CYP3A5\*1* i *CYP3A4\*1B*. Studija koja govori u prilog genotipizaciji *CYP3A4* zajedno s *CYP3A5* iz 2024. godine je otkrila značajan utjecaj kombiniranih fenotipova *CYP3A* kod bolesnika nakon transplantacije srca na potrebne doze takrolimusa. Razlike su uočene u ranom posttransplantacijskom periodu te su ostale značajne nakon 2, 3 i 6 mjeseci. Za *CYP3A5* neekspresore, *CYP3A4* fenotip bio je odgovoran za 40 % - 52 % varijabilnosti doze takrolimusa i koncentracija izmjerenih u krvi. Međutim, *CYP3A4* fenotip utjecao je samo na 11 % - 15 % varijabilnosti doze i izmjerene koncentracije takrolimusa u krvi među ekspresorima *CYP3A5*. Nositelji alela *CYP3A4\*1B* imali su značajno niže izmjerene koncentracije takrolimusa, odnosno zahtijevali su veće doze za održavanje terapijske koncentracije u usporedbi s nositeljima *CYP3A4\*1/\*1*. Nositelji alela *CYP3A4\*22* su zbog usporenog metabolizma trebali najniže doze takrolimusa (106). Radna skupina za farmakogenetiku kraljevskog nizozemskog farmaceutskog udruženja (engl. *Royal Dutch Pharmacists Association*, KNMP) odlučila je ne izdati preporuku za genotipizaciju u slučaju primjene takrolimusa, jer smatraju da nedostaje dokaza o kliničkom učinku fenotipova *CYP3A5* ekspresora u standardnoj kliničkoj praksi. Zbog toga, smatraju, nedostaju indikacije za pozitivan učinak određivanja fenotipa *CYP3A5* i prilagođavanje terapije prema tom fenotipu (93).

## 6. ZAKLJUČAK

Transplantacija srca zlatni je standard u liječenju uznapredovalog zatajivanja srca kada su iscrpljene sve ostale konvencionalne metode liječenja. Unaprjeđenjem postoperativnog praćenja i liječenja ishodi bolesnika su se značajno poboljšali. S ciljem sprječavanja pojave potencijalnog odbacivanja presatka nužne su redovite kontrole koncentracije imunosupresivnih lijekova kao i provođenje kontrolnih pregleda. Kako vrijeme nakon transplantacije prolazi, učestalost posjeta transplantacijskom centru se smanjuje ako nema komplikacija. Kao dio integriranog (multidisciplinarnog) tima, klinički farmaceut ima važnu ulogu prilikom usklađivanja terapije i titracije doza imunosupresivnih lijekova, posebice takrolimusa. Takrolimus ima interindividualno različitu farmakokinetiku ovisnu o genskom polimorfizmu bolesnika stoga se njegovo doziranje između različitih bolesnika može uvelike razlikovati. Razlike u potrebnoj dozi za postizanje ciljne koncentracije lijeka mogu postojati čak i kod istog bolesnika, ovisno o ostalim (konkomitantnim) lijekovima u terapiji s obzirom na to da je politerapija kod bolesnika liječenih nakon transplantacije srca neizbježna. Ako dolazi do započinjanja ili prekida liječenja lijekom koji je inhibitor / induktor CYP3A enzima, koji igra ključnu ulogu u metabolizmu takrolimusa, potrebna je provjera koncentracije takrolimusa te eventualna korekcija doze prema dobivenih rezultatima. TDM se pokazao kao vrlo dobar i praktičan alat kod određivanja potrebnih doza takrolimusa. Uz pomoć farmakogenetičkog testiranja provedenog prije transplantacije moguće bi bilo brže i točnije titrirati dozu takrolimusa. Na taj način bi se moglo smanjiti izlaganje bolesnika učestalom vađenju krvi u ranom posttransplantacijskom periodu i poboljšati liječenje. O potpunoj zamjeni tradicionalnog TDM-a farmakogenetičkim testiranjem govori se s rezervom zbog svih ranije opisanih prednosti TDM-a. Potreba za uvođenjem rutinskog farmakogenetičkog testiranja na farmakogene bitne za metabolizam takrolimusa prije početka terapije opisana je u nekoliko studija, no različita stručna društva imaju podijeljena mišljenja na tu temu. RNPGx je izdao smjernice prema kojima se preporučuje testiranje za alele *CYP3A5\*3* i *CYP3A4\*22* prije postupaka transplantacije bubrega, srca i pluća. Također, smatraju potencijalno korisnim traženje retrospektivne genotipizacije *CYP3A4* (*CYP3A4\*22*) i *CYP3A5\*1,\*3* u svrhu razjašnjavanja potrebe za manjim ili većim dozama takrolimusa. Najnovije studije su pokazale kako testiranje kombiniranog CYP3A fenotipa može pružiti detaljniji uvid u metabolički fenotip bolesnika i time pridonijeti optimiziranju doze takrolimusa u bolesnika nakon



transplantacije srca. To se posebno odnosi na CYP3A5 neekspresore, za koje trenutno nema uputa o prilagodbi doze takrolimusa. S druge strane, KNMP ne daje preporuku za genotipizaciju u slučaju takrolimusa pozivajući se na nedostatak dokaza o kliničkom učinku fenotipova CYP3A5 ekspresora u standardnoj kliničkoj praksi. Ključan enzim u metabolizmu takrolimusa je CYP3A5. Pripadnici bijele rase su u 3 – 15 % slučajeva nositelji alela \*1, odnosno ekspresori CYP3A5. Enzim CYP3A4 također sudjeluje u metabolizmu takrolimusa. Alel *CYP3A4\*22* važan je za smanjenu ekspresiju i funkciju enzima CYP3A4. Stoga nositelji ove varijante smanjene aktivnosti mogu imati usporen metabolizam takrolimusa. Prema NCBI bazi podataka, u pripadnika bijele rase navedeni polimorfizam je pronađen s prevalencijom od oko 2,5 %. Alel *CYP3A4\*1B* za koji se smatra da potencijalno povećava funkciju enzima CYP3A4, u europskoj populaciji ima učestalost oko 3 %. Kada se uzme u obzir broj bolesnika koji su podvrgnuti transplantaciji srca na godišnjoj razini i učestalost pojave alela koji doprinose ubrzanom metabolizmu takrolimusa, potrebne su dobro osmišljene farmakoeekonomske studije na čijim rezultatima bi se temeljile nadolazeće smjernice o rutinskom farmakogenetičkom testiranju za olakšano doziranje takrolimusa. Jedna od potencijalno korisnih studija je PREPARE studija iz 2023. godine. Rezultati navedene studije su pokazali kako se učestalost neželjenih reakcija na lijekove može smanjiti za otprilike 30 % koristeći rutinsko farmakogenomsko testiranje u odnosu na odabir doze prema kliničkim pokazateljima. Čak 25 % sudionika je imalo genetičku varijantu koja je bila značajna za propisani lijek, a među najčešćim spornim lijekovima našao se upravo takrolimus. S obzirom na broj zabilježenih i opisanih slučajeva neadekvatnog postizanja ciljnih koncentracija takrolimusa, mnoga stručna svjetska društva izdala su smjernice za doziranje. Tako prema CPIC smjernicama, primatelji presatka srca s ekstenzivnim (*CYP3A5 \*1/\*1*) ili intermedijarnim (*CYP3A5 \*1/\*3*) fenotipom metabolizma, općenito će zahtijevati povećanu dozu takrolimusa kako bi postigli terapijske koncentracije lijeka. Preporučena doza je 1,5 do 2 puta veća od standardnog doziranja, ali ne veća od 0,3 mg/kg/dan, uz naknadno praćenje TDM-om. Postoje minorne razlike u preporukama drugih relevantnih društava, ali definitivno se ističe kako bolesnici s promijenjenom farmakogenetičkom predispozicijom u smislu ubrzanog metaboličkog fenotipa zahtijevaju povećanje doze. Nositelji alela *CYP3A4\*22* imaju usporen metabolizam takrolimusa, no preporuke za doziranje takrolimusa kod takvih bolesnika nisu službeno uvrštene u smjernice CPIC, pa tako ni za nositelje alela *CYP3A4\*1B* za koji je pretpostavljen brži metabolizam takrolimusa. Potrebno je daljnje proučavanje i opisivanje slučajeva bolesnika s takvim genotipovima kako bi se stručna društva potaknulo na službenu izradu smjernica za doziranje kod tih bolesnika. Kao što je prikazano u obradi kliničkog slučaja, kontinuiran nadzor nad bolesnikom i redovito praćenje osigurava uspješan

tijek oporavka nakon transplantacije srca. Farmakogenetički nalaz bolesnika pomogao je u odlučivanju o doziranju takrolimusa. Uvođenjem diltiazema u terapiju postignute su ciljne koncentracije takrolimusa i omogućeno je korištenje doza takrolimusa koje ne izazivaju potencijalno toksične učinke lijeka s obzirom na inhibiciju CYP3A. Razvojem farmakogenetike, otvara se novo područje u znanstvenom svijetu koje pruža dodatne mogućnosti personalizirane medicine. Ekonomska procjena koristi izrade rutinskog farmakogenetičkog nalaza poprilično je težak zadatak. Jednom napravljen nalaz i pohranjen u bolesnikovoj povijesti bolesti ostaje doživotno valjan, te je primjenjiv za sve lijekove koji koriste testirani metabolički put. Povećanjem dostupnosti informacija o povezanosti utjecaja pojedinih genetičkih varijacija na učinkovitost lijeka ili pojavnost nuspojava istog, omogućava se približavanje precizne medicine cijelom spektru zdravstvenih djelatnika. U daljnjem razvoju personalizirane medicine potrebno je raditi na studijama koje će omogućiti uvid u isplativost rutinskog farmakogenetičkog testiranja za sve bolesnike, imajući na umu posebnu korist za pojedinog bolesnika koja proizlazi iz sprječavanja pojavnosti nuspojava, nedjelotvornosti lijeka ili drugih komplikacija liječenja. Farmakogenetičko testiranje daje mnogo korisnih informacija o doziranju lijekova i potrebi njihovog praćenja, međutim to je samo jedan od alata u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Suradnja multidisciplinarnog tima, s bolesnikom u središtu, može poboljšati ishode liječenja, smanjiti troškove zdravstvene skrbi i omogućiti bolju kvalitetu života.

## 7. LITERATURA I POPIS KRATICA

1. Barnard CN. A human cardiac transplant. An interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *S Afr Med J*. 1967;41:1271-1274.
2. Ahmed T, Jain A. Heart Transplantation. [Ažurirano 22.05.2023.]. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557571/> Pristupljeno 12.01.2024.
3. Samardžić J, Lovrić D, Miličić D. Transplantacija srca – indikacije, kontraindikacije i dugoročno liječenje transplantiranih bolesnika. *Medix*. 2011; XVII(92/93).
4. Alraies MC, Eckman P. Adult heart transplant: indications and outcomes. *J Thorac Dis*. 2014 Aug;6(8):1120-8.
5. Birati EY, Rame JE. Post-heart transplant complications. *Crit Care Clin*. 2014 Jul;30(3):629-37.
6. Ludhwani D, Abraham J, Kanmanthareddy A. Heart Transplantation Rejection. [Ažurirano 19.09.2022.]. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537057/> Pristupljeno 23.03.2024.
7. Ingulli E. Mechanism of cellular rejection in transplantation. *Pediatr Nephrol*. 2010 Jan;25(1):61-74.
8. Colvin MM, Cook JL, Chang P i sur. Antibody-Mediated Rejection in Cardiac Transplantation: Emerging Knowledge in Diagnosis and Management. *Circulation*. 2015;131(18):1608–1639.
9. Kittleston MM, Kobashigawa JA. Long-term care of the heart transplant recipient. *Curr Opin Organ Transplant*. 2014 Oct;19(5):515-24.
10. Chih S, Chruscinski A, Ross HJ, Tinckam K, Butany J, Rao V. Antibody-mediated rejection: an evolving entity in heart transplantation. *J Transplant*. 2012;2012:210210.
11. Panagopoulou V, Deftereos S, Kossyvakis C i sur. NTproBNP: an important biomarker in cardiac diseases. *Curr Top Med Chem*. 2013;13(2):82-94.

12. Carrero JJ, Andersson Franko M, Obergfell A, Gabrielsen A, Jernberg T. hsCRP Level and the Risk of Death or Recurrent Cardiovascular Events in Patients With Myocardial Infarction: a Healthcare-Based Study. *J Am Heart Assoc.* 2019 Jun 4;8(11).
13. Lateef N, Abdul Basit K, Abbasi N, Kazmi SM, Ansari AB, Shah M. Malignancies After Heart Transplant. *Exp Clin Transplant.* 2016 Feb;14(1):12-6.
14. NHS Blood and Transplant. Heart transplant medicines. *Dostupno na: <https://www.nhsbt.nhs.uk/organ-transplantation/heart/living-with-a-heart-transplant/heart-transplant-medicines/> Pristupljeno: 12.03.2024.*
15. Kohler S. Precision medicine – moving away from one-size-fits-all. *Quest: Science for South Africa.* 2018;14(3):12-15.
16. Duello TM, Rivedal S, Wickland C, Weller A. Race and genetics versus 'race' in genetics: A systematic review of the use of African ancestry in genetic studies. *Evol Med Public Health.* 2021 Jun 15;9(1):232-245.
17. UpToDate: Personalized medicine. *Dostupno na: [https://www.uptodate.com/contents/personalized-medicine?search=tarolimus%20pharmacogenetics&source=search\\_result&selectedTitle=6%7E150&usage\\_type=default&display\\_rank=6](https://www.uptodate.com/contents/personalized-medicine?search=tarolimus%20pharmacogenetics&source=search_result&selectedTitle=6%7E150&usage_type=default&display_rank=6) Pristupljeno: 25.03.2024.*
18. Oates JT, Lopez D. Pharmacogenetics: An Important Part of Drug Development with A Focus on Its Application. *Int J Biomed Investig.* 2018;1(2):111.
19. Dere WH, Suto TS. The role of pharmacogenetics and pharmacogenomics in improving translational medicine. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2009 Jan;6(1):13-6.
20. UpToDate: Overview of pharmacogenomics. *Dostupno na: [https://www.uptodate.com/contents/overview-of-pharmacogenomics?search=pharmacogenetics&source=search\\_result&selectedTitle=1%7E55&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/overview-of-pharmacogenomics?search=pharmacogenetics&source=search_result&selectedTitle=1%7E55&usage_type=default&display_rank=1) Pristupljeno: 25.03.2024.*
21. Kang J-S, Lee M-H. Overview of therapeutic drug monitoring. *Korean J Intern Med.* 2009;24:1–10.
22. Touw DJ, Neef C, Thomson AH, Vinks AA; Cost-Effectiveness of Therapeutic Drug Monitoring Committee of the International Association for Therapeutic Drug Monitoring and

- Clinical Toxicology. Cost-effectiveness of therapeutic drug monitoring: a systematic review. *Ther Drug Monit.* 2005;27:10–7.
23. Agrawal YP, Rennert H. Pharmacogenomics and the future of toxicology testing. *Clin Lab Med.* 2012;32:509–23.
24. McCudden CR. Quality, origins and limitations of common therapeutic drug reference intervals. *Diagnosis.* 2018 May;5(2):47–61.
25. Al Za'abi M, Al Muqbal J, Al-Waili K. Sampling time and indications appropriateness for therapeutically monitored drugs at a teaching university hospital in Oman. *Saudi Pharm J.* 2015;23:458–62.
26. UpToDate: Heart transplantation in adults: Induction and maintenance of immunosuppressive therapy. Dostupno na: [https://www.uptodate.com/contents/heart-transplantation-in-adults-induction-and-maintenance-of-immunosuppressive-therapy?search=mycophenolate%20mofetil&source=search\\_result&selectedTitle=4%7E148&usage\\_type=default&display\\_rank=3](https://www.uptodate.com/contents/heart-transplantation-in-adults-induction-and-maintenance-of-immunosuppressive-therapy?search=mycophenolate%20mofetil&source=search_result&selectedTitle=4%7E148&usage_type=default&display_rank=3) Pristupljeno: 25.03.2024.
27. Carrier M, Leblanc M-H, Perrault LP i sur. Basiliximab and rabbit anti-thymocyte globulin for prophylaxis of acute rejection after heart transplantation: a non-inferiority trial. *J Heart Lung Transplant.* 2007;26(3):258-263.
28. Bloom DD, Hu H, Fechner JH, Knechtle SJ. T-lymphocyte alloresponses of Campath-1H-treated kidney transplant patients. *Transplantation.* 2006;81:81.
29. Kim IC, Youn JC, Kobashigawa JA. The past, present and future of heart transplantation. *Korean Circ J.* 2018;48:565-590.
30. Chang DH, Youn JC, Dilibero D, Patel JK, Kobashigawa JA. Heart Transplant Immunosuppression Strategies at Cedars-Sinai Medical Center. *Int J Heart Fail.* 2021 Jan;3(1):15-30.
31. Grimm M, Rinaldi M, Yonan NA i sur. Superior prevention of acute rejection by tacrolimus vs. cyclosporine in heart transplant recipients--a large European trial. *Am J Transplant.* 2006;6:1387.
32. Groetzner J, Meiser BM, Schirmer J i sur. Tacrolimus or cyclosporine for immunosuppression after cardiac transplantation: which treatment reveals more side effects during long-term follow-up? *Transplant Proc.* 2001;33:1461.

33. Meiser BM, Uberfuhr P, Fuchs A i sur. Single-center randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of acute myocardial rejection. *J Heart Lung Transplant.* 1998;17:782.
34. Rinaldi M, Pellegrini C, Martinelli L i sur. FK506 effectiveness in reducing acute rejection after heart transplantation: a prospective randomized study. *J Heart Lung Transplant.* 1997;16:1001.
35. Reichart B, Meiser B, Viganò M i sur. European Multicenter Tacrolimus (FK506) Heart Pilot Study: one-year results--European Tacrolimus Multicenter Heart Study Group. *J Heart Lung Transplant.* 1998;17:775.
36. Taylor DO, Barr ML, Radovancevic B i sur. A randomized, multicenter comparison of tacrolimus and cyclosporine immunosuppressive regimens in cardiac transplantation: decreased hyperlipidemia and hypertension with tacrolimus. *J Heart Lung Transplant.* 1999;18:336.
37. Kobashigawa JA, Miller LW, Russell SD i sur. Tacrolimus with mycophenolate mofetil (MMF) or sirolimus vs. cyclosporine with MMF in cardiac transplant patients: 1-year report. *Am J Transplant.* 2006;6:1377.
38. Kobashigawa JA, Patel J, Furukawa H i sur. Five-year results of a randomized, single-center study of tacrolimus vs microemulsion cyclosporine in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant.* 2006;25:434.
39. Safarini OA, Keshavamurthy C, Patel P. Calcineurin Inhibitors. [Ažurirano 12.11.2023.]. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558995/> Pristupljeno: 13.01.2024.
40. PharmGKB: Tacrolimus/Cyclosporine Pathway, Pharmacodynamics. Dostupno na: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA165985892> Pristupljeno: 29.03.2024.
41. PharmGKB. Tacrolimus/Cyclosporine Pathway, Pharmacokinetics. Dostupno na: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA165986114> Pristupljeno: 14.03.2024.
42. Lown KS, Mayo RR, Leichtman AB i sur. Role of intestinal P-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther.* 1997;62:248-260.
43. UpToDate: Pharmacology of cyclosporine and tacrolimus. Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/pharmacology-of-cyclosporine-and->

[tacrolimus?search=tacrolimus%20monitoring&source=search\\_result&selectedTitle=2%7E146&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/search/tacrolimus%20monitoring&source=search_result&selectedTitle=2%7E146&usage_type=default&display_rank=1) Pristupljeno: 25.03.2024.

44. Hoorn EJ, Walsh SB, McCormick JA i sur. The calcineurin inhibitor tacrolimus activates the renal sodium chloride cotransporter to cause hypertension. *Nat Med.* 2011; 17:1304.
45. Eidelman BH, Abu-Elmagd K, Wilson J i sur. Neurologic complications of FK 506. *Transplant Proc.* 1991; 23:3175.
46. Wijdsicks EF, Wiesner RH, Krom RA. Neurotoxicity in liver transplant recipients with cyclosporine immunosuppression. *Neurology.* 1995; 45:1962.
47. Prommer E. Calcineurin-inhibitor pain syndrome. *Clin J Pain.* 2012; 28:556.
48. Hojo M, Morimoto T, Maluccio M i sur. Cyclosporine induces cancer progression by a cell-autonomous mechanism. *Nature.* 1999; 397:530.
49. Thorp M, DeMattos A, Bennett W i sur. The effect of conversion from cyclosporine to tacrolimus on gingival hyperplasia, hirsutism and cholesterol. *Transplantation.* 2000; 69:1218.
50. Talbot D, Rix D, Abusin K i sur. Alopecia as a consequence of tacrolimus therapy in renal transplantation? *Transplantation.* 1997; 64:1631.
51. Jensen SA, Dalhoff KP. Cyclosporine therapeutic drug monitoring. *Transplant Proc.* 2001 Sep;33(6):3003-5.
52. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2009; 9 (Suppl 3)
53. Allison AC. Mechanisms of action of mycophenolate mofetil. *Lupus.* 2005;14 (Suppl 1)
54. Drugbank. Mycophenolate mofetil. Dostupno na: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00688> Pristupljeno: 14.03.2024.
55. Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Sažetak opisa svojstava lijeka. CellCept 250mg tvrde kapsule. Dostupno na: [https://www.ema.europa.eu/hr/documents/product-information/cellcept-epar-product-information\\_hr.pdf](https://www.ema.europa.eu/hr/documents/product-information/cellcept-epar-product-information_hr.pdf) Pristupljeno: 14.03.2024.
56. PharmGKB: Mycophenolic acid Pathway, Pharmacokinetics/Pharmacodynamics. Dostupno na: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA165964832> Pristupljeno: 15.03.2024.

57. Specialist Pharmacy Service: Medicines Monitoring. Mycophenolate mofetil monitoring. Dostupno na: <https://www.sps.nhs.uk/monitorings/mycophenolate-mofetil-monitoring/> Pristupljeno: 29.03.2024.
58. Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Sažetak opisa svojstava lijeka. Certican 0,25 mg tablete. Dostupno na: [https://www.halmed.hr/upl/lijekovi/SPC/Sazetak-opisa-svojstava-lijeka\\_115.pdf](https://www.halmed.hr/upl/lijekovi/SPC/Sazetak-opisa-svojstava-lijeka_115.pdf) Pristupljeno: 17.03.2024.
59. Hirt SW, Bara C, Barten MJ i sur. Everolimus in heart transplantation: an update. *J Transplant*. 2013;2013:683964.
60. Kaplan B, Qazi Y, Wellen JR. Strategies for the management of adverse events associated with mTOR inhibitors. *Transplant Rev*. 2014;28(3):126-133.
61. Yasir M, Goyal A, Sonthalia S. Corticosteroid Adverse Effects. [Ažurirano 03.07.2023]. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531462/> Pristupljeno: 09.03.2024.
62. Lindenfeld J. Drug Therapy in the Heart Transplant Recipient: Part II: Immunosuppressive Drugs. *Circulation*. 2004 Dec 21;110(25):3858–65.
63. Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Sažetak opisa svojstava lijeka. Decortin 20 mg tablete. Dostupno na: <https://www.halmed.hr/upl/lijekovi/SPC/Decortin-SPC.pdf> Pristupljeno: 29.03.2024.
64. Strehl C, Buttgereit F. Langzeittherapie mit Glukokortikoiden. *Internist*. 2016;57(9):934–939.
65. Page RL 2nd, Miller GG, Lindenfeld J. Drug therapy in the heart transplant recipient: part IV: drug-drug interactions. *Circulation*. 2005; 111:230.
66. Staatz CE, Isbel NM, Bergmann TK, Jespersen B, Buus NH. Editorial: Therapeutic Drug Monitoring in Solid Organ Transplantation. *Front Pharmacol*. 2021 Dec 10;12:815117.
67. Seger C, Shipkova M, Christians U i sur. Assuring the Proper Analytical Performance of Measurement Procedures for Immunosuppressive Drug Concentrations in Clinical Practice: Recommendations of the International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Immunosuppressive Drug Scientific Committee. *Ther Drug Monit*. 2016 Apr;38(2):170-189.



68. Brunet M, van Gelder T, Åsberg A i sur. Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus-Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Ther Drug Monit.* 2019 Jun;41(3):261-307.
69. UpToDate: Grade 1A recommendation. Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/grade/1> Pristupljeno: 02.05.2024.
70. Shipkova M, Hesselink DA, Holt DW i sur. Therapeutic Drug Monitoring of Everolimus: A Consensus Report. *Ther Drug Monit.* 2016 Apr;38(2):143-69.
71. Bergan S, Brunet M, Hesselink DA i sur. Personalized Therapy for Mycophenolate: Consensus Report by the International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology. *Ther Drug Monit.* 2021 Apr 1;43(2):150-200.
72. Metz DK, Holford N, Kausman JY i sur. Optimizing mycophenolic acid exposure in kidney transplant recipients: time for target concentration intervention. *Transplantation.* 2019;103:2012–2030.
73. Tett SE, Saint-Marcoux F, Staatz CE i sur. Mycophenolate, clinical pharmacokinetics, formulations, and methods for assessing drug exposure. *Transpl Rev.* 2011;25:47–57.
74. Brunet M, Shipkova M, van Gelder T i sur. Barcelona consensus on biomarker-based immunosuppressive drugs management in solid organ transplantation. *Ther Drug Monit.* 2016;38(Suppl 1)
75. Picard N, Bergan S, Marquet P i sur. Pharmacogenetic biomarkers predictive of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of immunosuppressive drugs. *Ther Drug Monit.* 2016;38(Suppl 1)
76. Seger C, Shipkova M, Christians U i sur. Assuring the proper analytical performance of measurement procedures for immunosuppressive drug concentrations in clinical practice: recommendations of the international association of therapeutic drug monitoring and clinical toxicology immunosuppressive drug scientific committee. *Ther Drug Monit.* 2016;38:170–189.
77. Medication Guidelines for Solid Organ Transplants. Revizija: May 2021v2 (AMB.03.007 Rev11). Dostupno na: <http://www.transplant.bc.ca/Documents/Health%20Professionals/Clinical%20guidelines/Clinical%20Guidelines%20for%20Transplant%20Medications.pdf> Pristupljeno: 22.03.2024.
78. Manito N, Delgado JF, Crespo-Leiro MG i sur. Clinical recommendations for the use of everolimus in heart transplantation. *Transplant Rev.* 2010 Jul;24(3):129–142.

79. Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM i sur. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther.* 2012; 92:414.
80. U.S. Food and Drug Administration: Table of Pharmacogenetic Associations. *Dostupno na: <https://www.fda.gov/medical-devices/precision-medicine/table-pharmacogenetic-associations>*  
*Pristupljeno: 04.04.2024.*
81. Relling MV, Klein TE. CPIC: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium of the Pharmacogenomics Research Network. *Clin Pharmacol Ther.* 2011 Mar;89(3):464-7.
82. Barraclough KA, Isbel NM, Lee KJ i sur. NR1H2 polymorphisms are related to tacrolimus dose-adjusted exposure and BK viremia in adult kidney transplantation. *Transplantation.* 2012;94(10):1025-1032.
83. Šimičević L, Canjuga I, Zibar L, Borić-Bilušić A, Ganoci L, Božina N. Rapid clearance of tacrolimus blood concentration triggered by variant pharmacogenes. *J Clin Pharm Ther.* 2022;47:1461-1465.
84. Su L, Yin L, Yang J, Sun L. Correlation between gene polymorphism and blood concentration of calcineurin inhibitors in renal transplant recipients: an overview of systematic reviews. *Medicine.* 2019;98(26).
85. Tron C, Lemaitre F, Verstuyft C, Petitcollin A, Verdier MC, Bellissant E. Pharmacogenetics of membrane transporters of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2019;58(5):593-613.
86. Ogasawara K, Chitnis SD, Gohh RY, Christians U, Akhlaghi F. Multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2/ABCC2) haplotypes significantly affect the pharmacokinetics of tacrolimus in kidney transplant recipients. *Clin Pharmacokinet.* 2013;52(9):751-762.
87. Liu S, Chen RX, Li J i sur. Associations of SLCO1B1 polymorphisms with tacrolimus concentrations in Chinese renal transplant recipients. *Yao Xue Xue Bao.* 2016;51(8):1240-1244.
88. Wu Y, Fang F, Wang Z, Wen P, Fan J. The influence of recipient SLCO1B1 rs2291075 polymorphism on tacrolimus dose-corrected trough concentration in the early period after liver transplantation. *Eur J Clin Pharmacol.* 2021;77(6):859-867
89. Hubbard PA, Shen AL, Paschke R, Kasper CB, Kim JP. NADPH-cytochrome P450 oxidoreductase: structural basis for hydride and electron transfer. *J Biol Chem.* 2001 Aug;276(31):29163-70.

90. PharmGKB: Tacrolimus. Prescribing info. *Dostupno na:* <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA451578/prescribingInfo> *Pristupljeno:* 02.04.2024.
91. Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM i sur. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clin Pharmacol Ther.* 2015;98(1).
92. PharmGKB: Annotation of RNPGy Guideline for Tacrolimus and CYP3A4, CYP3A5. *Dostupno na:* <https://www.pharmgkb.org/guideline/Annotation/PA166202481> *Pristupljeno:* 02.04.2024.
93. PharmGKB: Annotation of DPWG Guideline for tacrolimus and CYP3A5. *Dostupno na:* <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA451578/guidelineAnnotation/PA166104983> *Pristupljeno:* 03.04.2024.
94. Lodha AR, Pillai A, Sheth K, Hiremath J. A retrospective cohort study exploring diltiazem as a pharmaco-enhancer for tacrolimus, in a post-heart transplant setting. *Clin Transplant.* 2020. Dec;34(12).
95. Susomboon T, Kunlamas Y, Vadcharavivad S i sur. The effect of the very low dosage diltiazem on tacrolimus exposure very early after kidney transplantation: a randomized controlled trial. *Sci Rep.* 2022;12:14247.
96. Gellner K, Eiselt R, Hustert E i sur. Genomic organization of the human CYP3A locus: identification of a new, inducible CYP3A gene. *Pharmacogenetics.* 2001;11:111–121.
97. Lee JS, Cheong HS, Kim LH i sur. Screening of Genetic Polymorphisms of CYP3A4 and CYP3A5 Genes. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2013 Dec;17(6):479-84.
98. PharmGKB: rs2740574. *Dostupno na:* <https://www.pharmgkb.org/variant/PA166157367> *Pristupljeno:* 24.05.2024.
99. Lamba J, Hebert JM, Schuetz EG, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for CYP3A5. *Pharmacogenet Genomics.* 2012 Jul;22(7):555-8.
100. Déri M, Szakál-Tóth Z, Fekete F i sur. CYP3A-status is associated with blood concentration and dose-requirement of tacrolimus in heart transplant recipients. *Sci Rep.* 2021 Nov 1;11(1):21389.

101. Hughes DA. Economics of Pharmacogenetic-Guided Treatments: Underwhelming or Overstated? *Clin Pharmacol Ther.* 2018;103(5):749–751.30.
102. Swen JJ, Manson LEN, Böhringer S, Pirmohamed M, Guchelaar HJ. (2023). The PREPARE study: benefits of pharmacogenetic testing are unclear – Authors' reply. *The Lancet.* 401(10391), 1851-1852.
103. Stallings SC, Huse D, Finkelstein SN i sur. A framework to evaluate the economic impact of pharmacogenomics. *Pharmacogenomics.* 2006;7(6):853–862.
104. Rasmussen-Torvik LJ, Stallings SC, Gordon AS i sur. Design and anticipated outcomes of the eMERGE-PGx project: a multicenter pilot for preemptive pharmacogenomics in electronic health record systems. *Clin Pharmacol Ther.* 2014 Oct;96(4):482-9.
105. Picard N, Boyer JC, Etienne-Grimaldi MC i sur. French National Network of Pharmacogenetics (RNPGx). Pharmacogenetics-based personalized therapy: Levels of evidence and recommendations from the French Network of Pharmacogenetics (RNPGx). *Therapies.* 2017;72(2):185-192.65.
106. Liu M, Hernandez S, Aquilante CL i sur. Composite CYP3A (CYP3A4 and CYP3A5) phenotypes and influence on tacrolimus dose adjusted concentrations in adult heart transplant recipients. *Pharmacogenomics J.* 2024;24(4):1-5.

ACC (engl. *American College of Cardiology*) – Američki kolegij kardiologije

ACR (engl. *acute cellular rejection*) - akutno stanično odbacivanje

AHA (engl. *American Heart Association*) - Američko društvo za srce

AMR (engl. *acute humoral rejection*) - akutno humoralno odbacivanje

AP-1 (engl. *activator protein-1*) - aktivatorski protein-1

ATG (engl. *anti-thymocyte globulin*) - anti-timocitni globulin

AUC (engl. *area under the curve*) - površina ispod krivulje koncentracije u odnosu na vrijeme

CAV (engl. *cardiac allograft vasculopathy*) – vaskulopatija presatka srca

CPNDS (engl. *Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety*) - Kanadska mreža farmakogenomike za sigurnost lijekova

CD40L (engl. *CD40 ligand*) - ligand CD40

CES (engl. *carboxylesterase*) – karboksilesteraza

CI (engl. *cardiac index*) – srčani indeks

CMV (engl. *cytomegalovirus*) - citomegalovirus

CNI (engl. *calcineurin inhibitor*) - kalcineurinski inhibitori

CPIC (engl. *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*) - konzorcij za implementaciju kliničke farmakogenetike

Cox-2 (engl. *cyclooxygenase-2*) – enzim ciklooksigenaza 2

CYP = CYP450 (engl. *Cytochrome P450; CYPs*) – natporodica enzima citokroma P450

CYP3A4 (engl. *Cytochrome P450 Family 3 Subfamily A Member 4*) – enzim natporodice citokroma P450, porodica 3, potporodica A, član 4

CYP3A5 (engl. *Cytochrome P450 Family 3 Subfamily A Member 5*) - enzim natporodice citokroma P450, porodica 3, potporodica A, član 5

DM-MPA (engl. *6-O-desmethyl-MPA*) - 6-O-desmetil-MPA

DNA (engl. *deoxyribonucleic acid, DNA*) - deoksiribonukleinska kiselina

DPWG (engl. *Dutch Pharmacogenetics Working Group*) - Nizozemska farmakogenetička radna skupina

DSA (engl. *donor-specific alloantibody*) - donor specifična protutijela

EBV (engl. *Epstein - Barr virus*) – Epstein - Barrov virus

ECMO (engl. *extracorporeal membrane oxygenation*) - ekstrakorporalna membranska oksigenacija

EF (engl. *ejection fraction*) – ejekcijska frakcija

FDA (engl. *Food and Drug Administration*) - Uprava za hranu i lijekove

EMA (engl. *European Medicines Agency*) - Europska agencije za lijekove

ESC (engl. *European Society of Cardiology*) - Europsko kardiološko društvo

FAC (engl. *fractional area change*) – frakcijska promjena površine

FEV1 (engl. *forced expiratory volume*) - forsirani izdisajni volumen u jednoj sekundi

FK-BP (engl. *FK-binding protein*) - FK-vezujući proteini

FRAP (engl. *FK506-binding protein 12-rapamycin-associated protein*)

FVC (engl. *forced vital capacity*) - forsirani vitalni kapacitet

GRE (engl. *glucocorticoid response element*) - element odgovora na glukokortikoid

HF (engl. *heart failure*) – zatajivanje srca

HFSA (engl. *Heart Failure Society of America*) - Društvo za zatajivanje srca Amerike

HLA (engl. *human leukocyte antigens*) - humani leukocitni antigen

HPV (engl. *human papillomavirus*) – humani papilomavirus

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

HSP (engl. *heat shock protein*) - protein toplinskog šoka

IATDMCT (engl. *International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology*) - Međunarodno udruženje za terapijsko praćenje lijekova i kliničku toksikologiju

IFN- $\gamma$  (engl. *interferon gamma*) - interferon-gama

IL (engl. *interleukin*) – interleukin

IMPDH (engl. *inosine-5'-monophosphate dehydrogenase*) - inhibitor inozin-5'-monofosfat dehidrogenaze

IRF-3 (engl. *interferon regulatory factor 3*) - interferonski regulatorni faktor-3

ISHLT (engl. *The International Society for Heart and Lung Transplantation*) – Međunarodno društvo za transplantaciju srca i pluća

IVIG (engl. *intravenous immunoglobulin*) - intravenski imunoglobulin

KNMP (engl. *Royal Dutch Pharmacists Association*) - Radna skupina za farmakogenetiku kraljevskog nizozemskog farmaceutskog udruženja

LC-MS/MS (engl. *liquid chromatography with tandem mass spectrometry*)-tekućinska kromatografija spregnuta s tandemnom spektrometrijom masa

LMCA (engl. *left main coronary artery*) - lijeva glavna koronarna arterija

MAPKs (engl. *mitogen-activated protein kinases*) – mitogenom aktivirane protein kinaze

MPA (engl. *mycophenolic acid*) - mikofenolna kiselina

MPAG (engl. *MPA-7-O-glucuronide*) - MPA-7-O-glukuronid

mPAP (engl. *mean pulmonary arterial pressure*) – srednji plućni arterijski tlak

MRP2 (engl. *multidrug resistance-associated protein 2*) - protein povezan s višestrukom otpornošću na lijekove 2

m-TOR (engl. *mammalian target-of-rapamycin*)

NCBI (engl. *National Center for Biotechnology Information*) - Nacionalni centar za biotehnoške informacije

NFAT (engl. *nuclear factor of activated T-cells*) - nuklearni faktor aktiviranih T-stanica

NF-κB (engl. *nuclear factor kappa B*) - nuklearni faktor-κB

NIH (engl. *National Institutes of Health*) - Nacionalni institut za zdravlje

NK cells (engl. *natural killer cells*) - prirodne stanice ubojice

NT-proBNP (engl. *N-terminal proBrain natriuremic peptide*) - N-terminalni fragment prohormona moždanog natriuretskog peptida

NYHA (engl. *New York Heart Association*)

OATP (engl. *organic anion transporting polypeptides*) - polipeptidni transporter organskih aniona

PCR (engl. *polymerase chain reaction*) - polimerazna lančana reakcija

PGD (engl. *primary graft dysfunction*) - primarna disfunkcija presatka

P-gp (engl. *P-glycoprotein*) - P-glikoprotein

PGRN (engl. *Pharmacogenomics Research Network*) - Mreža za istraživanje farmakogenomike

PH (engl. *pulmonary hypertension*) - plućna hipertenzija

PPIA (engl. *peptidylprolyl isomerase A*) – peptidilprolil izomeraza A

PREPARE (engl. *Pre-emptive Pharmacogenomic Testing for Preventing Adverse Drug Reactions*) - preventivno farmakogenomsko testiranje za sprječavanje nepoželjnih reakcija na lijekove

PSA (engl. *prostate-specific antigen*) - prostata-specifični antigen

PSI (engl. *proliferation signal inhibitor*) - inhibitor signala proliferacije

PTLD (engl. *post-transplant lymphoproliferative disorder*) – posttransplantacijski limfoproliferativni poremećaj

PVR (engl. *pulmonary vascular resistance*) – plućni vaskularni otpor

RNPGx (engl. *French National Network of Pharmacogenetics*) - Francuska nacionalna mreža farmakogenetike

SGD (engl. *secondary graft dysfunction*) – sekundarna disfunkcija presatka

SNP (engl. *single nucleotide polymorphism*) – promjena u jednom nukleotidu

TAPSE (engl. *tricuspid annular plane systolic excursion*) - sistolički pomak trikuspidnog anulusa

TDM (eng. *therapeutic drug monitoring*) - terapijsko praćenje lijeka



TGFβ1 (engl. *transforming growth factor beta-1*) – transformirajući faktor rasta beta-1

TNF-α (engl. *tumor necrosis factor-alpha*) - tumor nekroza faktor-alfa

TPG (engl. *transpulmonary pressure gradient*) – transpulmonalni gradijent tlaka

UGT (engl. *UDP glucuronosyl transferase*) - UDP glukuronzil transferazama

VEGF (engl. *vascular endothelial growth factor*) – vaskularni endotelni faktor rasta

6MWT (engl. *six minute walk test*) – šestominutni test hodanja

13-DMT (engl. *13-O-demethyl-tacrolimus*) - 13-O-demetil-takrolimus

31-DMT (engl. *31-O-demethyl-tacrolimus*) - 31-O-demetil-takrolimus

# ŽIVOTOPIS

## **Nives Kerner**

Datum rođenja: 24.04.1997.

Mjesto rođenja: Zagreb

Adresa boravišta: Milana Rešetara 23, 10000, Zagreb

Email: [tkd.kerner@gmail.com](mailto:tkd.kerner@gmail.com)

Telefon: +385 91 721 8338

## **Iskustvo**

2022 – DANAS

Opća bolnica Zadar – specijalizacija iz kliničke farmacije i rad u bolničkoj ljekarni.

2021 – 2022

Ljekarne Baričević – rad u ljekarni samostalno i sa suradnicima.

Stručno osposobljavanje u trajanju od 6 mjeseci u ljekarni Lukačin, Zagreb.

Višegodišnje iskustvo u vođenju sportskih treninga i timskom radu.

## **Školovanje**

**Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb**

Položen stručni ispit 2021.

Diplomiranje 2021.

**Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb**

2016 - 2021

**Gimnazija Lucijana Vranjanina, Zagreb**

2012 - 2016

**Osnovna škola Ante Kovačić, Zagreb**

2004 - 2012

### **Vještine**

Komunikacija s pacijentima

Fleksibilna i učinkovita u suradnji s kolegama i poslovnim partnerima

Vozački ispit B kategorija

### **Jezici**

Tečno znanje u govoru i pismu engleskog jezika.