

# Individualizacija terapije tamoksifenom i polimorfizam CYP2D6

---

**Bešić, Edita**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2024**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:774225>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-13**



*Repository / Repozitorij:*

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Edita Bešić**

**Individualizacija terapije tamoksifenom i  
polimorfizam CYP2D6**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2024.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za farmakologiju Medicinskog fakulteta u Zagrebu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Jelena Osmanović Barilar i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2023./2024.

## **Popis kratica**

ACTH- adrenokortikotropni hormon

CNV - varijabilni broj kopija (engl. copy number variation)

CPIC- Konzorcij za kliničku primjenu farmakogenetike ( engl. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium)

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

DPWG - Nizozemska radna grupa za farmakogenetiku (Dutch Pharmacogenetics Working Group)

EM - brzi/normalni metabolizator (engl. extensive metabolizer)

ER- estrogenski receptor

ER+- estrogen receptor pozitivan

FDA – Agencija za hranu i lijekove ( engl. Food and Drug Administration)

FSH- folikularni stimulirajući hormon

HER2+- ljudski epidermalni faktor rasta pozitivan ( engl. human epidermal growth factor)

IM - srednje brzi metabolizator (engl. intermediate metabolizer)

LH- luteinizirajući hormon

LHRH- gonadotropin oslobađajući hormon (engl. luteinizing hormone releasing hormone)

NM- normalni metabolizator (engl. normal metabolizer)

PM - spori metabolizator (engl. poor metabolizer)

PR+- progesteron receptor pozitivan

S faza- faza sinteze ( engl. synthesis)

SERM- selektivni modulatori estrogenskog receptora

SNP - polimorfizam jednog nukleotida (engl. single nucleotide polymorphism)

UM - vrlo brzi metabolizator (engl. ultrarapid metabolizer)

# SADRŽAJ

## SAŽETAK

## SUMMARY

1. HORMONSKI OVISAN KARCINOM DOJKE .....	1
2. HORMONSKA TERAPIJA KARCINOMA DOJKE .....	3
2.1. Ablativna terapija .....	3
2.2. Antiestrogeni.....	4
2.2.1. Tamoksifen .....	5
2.3. Inhibitori sinteze estrogena.....	11
2.4. Aditivna terapija.....	12
3. FARMAKOGENETIKA I FARMAKOGENOMIKA .....	13
4. BIOTRANSFORMACIJA LIJEKOVA .....	15
4.1.1. Citokrom P450 (CYP) .....	17
5. GENETIČKI POLIMORFIZAM ENZIMA BIOTRANSFORMACIJE.....	19
5.1. Citokrom P450 2D6 (CYP2D6) i polimorfizam gena CYP2D6 .....	21
6. UTJECAJ POLIMORFIZMA CYP2D6 NA TERAPIJU TAMOKSIFENOM.....	26
7. ZAHVALE .....	30
8. LITERATURA.....	31
9. ŽIVOTOPIS.....	34

## SAŽETAK

### INDIVIDUALIZACIJA TERAPIJE TAMOKSIFENOM I POLIMORFIZAM CYP2D6

Edita Bešić

Tamoksifen je hormonska terapija koja se koristi u liječenju i prevenciji karcinoma dojke ovisnih o estrogenu. Karcinomi dojke ovisni o estrogenu maligni su tumori koji na svojim stanicama eksprimiraju receptore za estrogen. Tamoksifen je selektivni modulator estrogeni receptora, koji na tkivo dojke ima antiestrogeni učinak, te time sprječava proliferacijski učinak estrogena na stanice i posljedično rast tumora. Da bi se postigao terapijski učinak, tamoksifen se u organizmu metabolizira uglavnom putem CYP2D6 enzima do svojeg temeljnog aktivnog metabolita, endoksifena. Gen koji kodira za enzim CYP2D6 je vrlo polimorfan, podložan varijabilnostima, što uzrokuje fenotipski raznoliku enzimatsku aktivnost. Definirana su četiri metabolička fenotipa CYP2D6: vrlo brzi, normalni, intermedijarni i spori metabolizatori. To utječe na učinkovitost lijekova koji se metaboliziraju putem CYP2D6. Razvojem personalizirane medicine i individualnog pristupa liječenju, razvijene su smjernice za odabir i doziranje nekih lijekova prema genetičkom profilu pojedinca. Tako vrlo brzi i normalni metabolizatori tamoksifena postižu terapijski učinak primjenom standardnih doza. Nasuprot tome, spori i intermedijarni metabolizatori imaju nižu koncentraciju endoksifena u plazmi, što smanjuje terapijski učinak tamoksifena i povećava rizik povrata bolesti pa im se preporuča alternativna terapija.

Ključne riječi: tamoksifen, hormonski ovisan karcinom dojke, CYP2D6, polimorfizam gena

## SUMMARY

### INDIVIDUALIZATION OF TAMOXIFEN THERAPY AND CYP2D6 POLYMORPHISM

Editra Bešić

Tamoxifen is a hormone therapy used in the treatment and prevention of hormone-dependent breast cancers. Estrogen dependent breast cancers are malignant tumors that express receptors for the estrogen. Tamoxifen acts as selective estrogen modulators with antiestrogen effect on breast tissue, which prevents the proliferative effect of estrogen on cells and consequently the growth of tumors. In order to achieve a therapeutic effect, tamoxifen in the body must first be metabolized mainly by the CYP2D6 enzyme to its main active metabolite, endoxifen. The gene that codes for the CYP2D6 enzyme is highly polymorphic, prone to variability, which causes phenotypically diverse enzymatic activity. By translating the genotype into the phenotype, four CYP2D6 phenotypes were defined: very fast, normal, intermediate and slow metabolizers. This affects the effectiveness of drugs that are metabolized by CYP2D6. With the development of personalized medicine and an individual approach to treatment, guidelines were developed for the selection and dosage of some drugs according to the individual's genetic profile. Thus, very fast and normal metabolizers of tamoxifen achieve a therapeutic effect using standard doses. In contrast, slow and intermediate metabolizers have a lower concentration of endoxifen in plasma, which reduces the therapeutic effect of tamoxifen and increases the risk of disease relapse, so alternative therapy is recommended for them.

Key words: tamoxifen, hormon-dependent breast cancer, CYP2D6, polymorphism of gene



## 1. HORMONSKI OVISAN KARCINOM DOJKE

Karcinom dojke najčešći je tumor u žena i jedan od najčešćih uzroka smrti u žena(1). U oko 75% slučajeva hormonski je ovisan tumor(2). Hormonski ovisni tumor je vrsta tumora na čijim stanicama se nalaze receptori za steroidne hormone poput estrogena, progesterona, androgena, glukokortikoida, mineralokortikoida i tireoidnih hormona. Nakon vezanja hormona za receptor stvara se kompleks hormon-receptor koji se veže za deoksiribonukleinsku kiselinu (DNA), inducirajući ekspresiju određenih gena i sintezu specifičnih proteina u ciljnom tkivu(3). Tako estrogen-receptor kompleks u tkivu dojke mijenja ekspresiju gena, što dovodi do pojačane stanične proliferacije i sprječavanja apoptoze. Poticanjem stanične proliferacije povećava se rizik za nakupljanje genetičkih pogrešaka i nastanak mutacija. To sve pokreće nekontrolirani rast i u konačnici razvoj hormonski ovisnog karcinoma dojke(4,5). Stvaranje genotoksičnih oksidativnih metabolita estrogena, što rezultira pojavom mutacija, polimorfizam gena za enzime koji kataliziraju sintezu i metabolizam estrogena još neki su od mehanizama kojima se objašnjava povezanost estrogena i karcinogeneze(4).

Uz estrogenski receptor (ER), važni su i statusi receptora za progesteron (PR) i humani epidermalni faktor rasta 2 (HER2)(3). HER2 je gen koji je dio signalnog puta za rast stanice. 15-20% karcinoma dojke je HER2+, odnosno ima povećanu ekspresiju HER2 proteina na svojim stanicama. HER+ karcinomi pokazuju tendenciju bržeg rasta i diseminacije bolesti. S obzirom da postoji ciljana terapija monoklonskim protutijelom za sve HER+ karcinome, svaki novodijagnosticirani rak dojke ispituje se imunohistokemijski na ekspresiju HER2 proteina(6).

S obzirom na status receptora, karcinom dojke dijeli se u tri skupine: HER2+ pozitivni, hormonski ovisan i trostruko negativni karcinom dojke. Karcinomi koji ekspimiraju na svojim stanicama bilo koji od ER, PR, HER2 imaju bolju prognozu, a od njih najagresivniji su HER2+ karcinomi. Trostruko negativni karcinom dojke ima najlošiju prognozu jer se ne može liječiti ni hormonskom terapijom ni inhibitorima HER2, već je u terapijskom pristupu potrebno kombinirati kirurško liječenje, radioterapiju i nespecifičnu kemoterapiju(7).

Oko 80% raka dojke je ER+, odnosno ima estrogenske receptore, a 60% ER+ karcinoma dojke je PR+, odnosno ima progesteronske receptore(7). Da bi se karcinom dojke smatrao hormonski osjetljivim i da bi se na njega mogla primijeniti hormonska terapija, mora imati ekspresiju receptora za estrogen na 1% tumorskih stanica, odnosno za progesteron na 20% tumorskih stanica(2).

Osim zbog mogućnosti primjene hormonske terapije, hormonska ovisnost povoljan je prognostički čimbenik i zbog toga što se pokazalo da recidiv ili presadnica nakon liječenja lokalnog karcinoma obično dogodi se kasnije nego u bolesnica s hormonski neovisnim tumorima te što se hormonski ovisni karcinomi dojke uglavnom sastoje od dobro diferenciranih stanica i obično imaju malo stanica u S fazi (syntesis) staničnog ciklusa- fazi sinteze, odnosno replikacije DNA(3).

## 2. HORMONSKA TERAPIJA KARCINOMA DOJKE

Hormonska terapija raka dojke primjenjuje se kao adjuvatna terapija, što znači da nakon primarnog načina liječenja, najčešće kirurškog, daje se s ciljem smanjenja rizika lokalnog recidiva ili udaljenih metastaza, uz prethodni dokaz nepostojanja bolesti. Zabilježena je ukupna stopa odgovora do 50%, što čini hormonsku terapiju raka dojke vrlo učinkovitim oblikom liječenja. Drugi oblici adjuvatnog liječenja raka dojke uključuju kemoterapiju, radioterapiju, imunoterapiju i ciljanu terapiju inhibitorima tirozin kinaze(3).

Temeljne su prednosti hormonskog liječenja selektivnost, dobra učinkovitost i podnošljivost te mala toksičnost(2,3).

Hormonska terapija raka dojke uključuje ablativnu terapiju, antiestrogensku terapiju, terapiju inhibitorima sinteze estrogena i aditivnu terapiju(3).

### 2.1. Ablativna terapija

Uključuje kirurško uklanjanje jajnika-ovarietomiju, zračenje jajnika te liječenje LHRH (engl. luteinizing hormone releasing hormone) agonistima. Primjenjuju se u premenopausalnih žena, s obzirom da jajnici u tih bolesnica predstavljaju glavni izvor estrogena. Zbog ireverzibilnosti i mogućih kasnijih nuspojava poput zračenjem induciranih sekundarnih zloćudnih tumora, ovarietomija i zračenje jajnika danas relativno su napuštene metode liječenja hormon-ovisnih karcinoma dojke.

Zbog reverzibilnosti svojeg djelovanja, oblik ablativne terapije koji se najčešće provodi je liječenje LHRH agonistima. LHRH agonisti sintetički su kemijski spojevi nalik LHRH koji se u organizmu se oslobađa iz hipotalamusa, ali s većom potentnošću(3). Naime, LHRH iz hipotalamusa veže se za svoje receptore u adenohipofizi potičući oslobađanje luteinizirajućeg hormona (LH) i folikul-stimulirajućeg hormona (FSH) koji mijenjaju koncentraciju estrogena u organizmu. Za razliku od LHRH endogeno stvorenim u ljudskom organizmu, LHRH agonisti zbog drugačijeg slijeda aminokiselina u svojoj kemijskoj strukturi otporni su na djelovanje enzima peptidaza koje razgrađuju LHRH. Posljedično dulje vrijeme ostanu vezani za svoje receptore u adenohipofizi. To dovodi do desenzitizacije receptora za LHRH, smanjenog lučenja LH i FSH te u konačnici, smanjene koncentracije estrogena(7). Najvažniji predstavnici jesu goserelin i leuprolid(3).

## 2.2. Antiestrogeni

Skupina su lijekova koja sprječava vezanje estrogena na receptore i posljedično njihovo djelovanje u tkivu(7). Nazivaju se još i kompetitivnom terapijom(3). Dijele se u dvije glavne skupine: selektivne modulare estrogenskih receptora (SERM) i potpune antagoniste estrogenskih receptora (ER). Glavna razlika ovih skupina je što potpuni antagonisti ER djeluju na svim ER u svim tkivima, a SERM samo u nekim tkivima(7). Najznačajniji predstavnik terapije antiestrogenima je tamoksifen i spada u SERM(3).

### 2.2.1. Tamoksifen

#### Indikacije

Tamoksifen koristi se u liječenju i prevenciji hormonski ovisnih karcinoma dojke u premenopauzalnih i postmenopauzalnih žena više od 40 godina(7). Za pacijentice premenopauzalne dobi predstavlja zlatni standard adjuvatnog hormonskog liječenja(8). S obzirom da se liječenje inhibitorima aromataze pokazalo uspješnijim i postigao se daljni napredak u preživljenju bez znakova bolesti, u postmenopauzalnih bolesnica s rakom dojke tamoksifen druga je linija terapije(8,9). Trajanje liječenja tamoksifenom iznosi 5-10 godina, osim u pacijentica s metastatskim oblikom bolesti- tada se terapija ordinira do pojave pogoršanja bolesti ili razvoja prevelike toksičnosti za organizam(8).

Primjenom liječenja u trajanju od 5 godina nakon operativnog zahvata, tamoksifen smanjuje pojavu recidiva godišnje za skoro 50% i reducira smrtnost za jednu trećinu i u premenopauzalnih i postmenopauzalnih bolesnica(10). U liječenju ranog karcinoma dojke tamoksifenom pokazano je 35% smanjenje incidencije kontralateralnog karcinoma dojke(11).

Postigla se i učinkovitost od 50% u prevenciji bolesti u žena s visokim rizikom razvoja raka dojke, ali samo hormonski aktivnih oblika karcinoma dojke(1). Čimbenici koji povećavaju rizik nastanka raka dojke jesu starija životna dob, pozitivna obiteljska anamneza, starija životna dob prilikom prvog poroda, nerađanje, rana menarha i kasna menopauza, izloženost zračenju, debljina, uzimanje oralnih kontraceptiva ili kombinirane hormonske terapije i postojanje dobroćudne parenhimatozne bolesti dojke od ranije(1,8). Međutim, potrebno je procijeniti korist primjene tamoksifena u takvih žena s obzirom na povećani rizik od razvoja teških nuspojava poput raka endometrija, tromboembolijskih zbivanja i katarakte(3).

#### Mehanizam djelovanja

Tamoksifen ubraja se u skupinu lijekova pod nazivom selektivni modulatori estrogenskih receptora (SERM). Selektivni modulatori estrogenskih receptora (ER) su lijekovi koji mogu djelovati antagonistički, odnosno inhibicijski, ili agonistički, odnosno ekscitacijski na ER, ovisno o tkivu na koje ostvaruju učinak(7). Tamoksifen na stanice raka dojke ostvaruje antagonistički, odnosno antiestrogenski učinak, kompetitivno vežući se za ER, blokirajući tako vezanje estrogena i njegovo djelovanje u stanici(2,3). S druge strane, na stanice kostiju ima agonistički, povoljan učinak jer održava adekvatnu gustoću kostiju(3). Navedeni učinak osobito je važan u postmenopauzalnih žena, zato što prevenira razvoj osteoporoze, stanja značajne reducirane gustoće kosti koje posljedično povećava sklonost prijelomima kostiju(12). Na tkivo endometrija također ima agonistički, ali nepovoljni učinak, povećava rizik za razvoj raka endometrija 2-4 puta(3).

Opisani dualni način djelovanja tamoksifena i SERM-ova općenito kompleksan je i objašnjava se pomoću više mehanizama. Jedan od temeljnih mehanizama je stvaranje različitih konformacija ER-a prilikom vezanja. Naime, postoje dvije vrste ER, ER $\alpha$  i ER $\beta$ . Nakon vezanja estrogena za ER, stvara se kompleks hormon-receptor i dolazi do dimerizacije receptora- receptori su u monomernom obliku prije vezanja liganda, a nakon kombiniraju se i tvore aktivni dimer(13). To znači da u slučaju ER, mogu nastati homodimeri (ER $\alpha$  - ER $\alpha$ , ER $\beta$ -ER $\beta$ ), ili heterodimer (ER $\alpha$  -ER $\beta$ ). Novonastali dimer, ovisno o strukturi, veže se za koaktivatore ili korepresore, što uzrokuje agonistički ili antagonistički učinak. U tkivima u kojima SERM djeluje kao agonist vežu se koaktivatori, u tkivima gdje je antagonist vežu se korepresori. U različitim tkivima je drugačija ekspresija ER $\alpha$  i ER $\beta$ , koji imaju različite afinitete za ligande. ER $\alpha$  se većinom nalazi u dojci, endometriju maternice, tekalnim i stromalnim stanicama jajnika, jetri i hipotalamusu muškaraca, a ER $\beta$  u epitelu prostate, testisima, granuloznim stanicama jajnika, koštanoj srži i mozgu. Omjer koaktivatora i korepresora nije isti u svim tkivima, što također objašnjava da je isti ligand agonist je u nekim tkivima, a antagonist u drugim(7).

## Farmakokinetika

Nakon oralne primjene tamoksifen brzo se resorbira u organizmu. Visoko je vezan na proteine u plazmi, najviše albumin (>99%). Apsorpcija tamoksifena varijabilna je, što se pripisuje interindividualnim razlikama u metabolizmu u jetri i apsorpciji u probavnom sustavu. Faza distribucije lijeka u organizmu iznosi 7-14 sati(14).

Metabolizam tamoksifena vrlo je složen. Tamoksifen slab je antiestrogen čijim metabolizmom nastaju njegovi analozi sa sličnom, manjom ili jačom, odnosno potentnijom antiestrogenskom aktivnošću. Podliježe metabolizmu u jetri putem citokrom P450 enzima putem dva glavna metabolička puta: N-demetilacije i 4-hidroksilacije. Tamoksifen predominantno se metabolizira demetilacijom putem CYP3A4 enzima do N-demiltamoksifena, slabog antiestrogena koji se nadalje metabolizira oksidacijskom reakcijom putem CYP2D6 enzima do aktivnog metabolita 4-hidroksi-N-demiltamoksifena, endoksifena. Smatra se da opisani metabolitički put pridonosi više od 90% metabolizma tamoksifena. Manji dio tamoksifena metabolizira se procesom hidroksilacije u 4- hidroksitamoksifen (najvećim dijelom putem CYP2D6, ali i CYP3A4 i CYP2C19), koji dalje može prijeći u endoksifen. Dakle, hidroksilacijom ili tamoksifena ili N-demiltamoksifena smatra se da dolazi do bioaktivacije tamoksifena; endoksifen i hidroksitamoksifen imaju oko 100x veću antiestrogensku potentnost u odnosu na tamoksifen.



Bolesnice na terapiji tamoksifenom s niskom aktivnošću enzima CYP2D6, bilo zbog polimorfizma gena za CYP2D6 ili istovremene primjene jakih CYP2D6 inhibitora, imaju značajno nižu koncentraciju endoksifena u odnosu na bolesnice s normalnom aktivnošću CYP2D6. Tamoksifen i njegovi metaboliti podliježu i procesima glukuronidacije i sulfatacije, ali bez za sad poznatog utjecaja farmakogenetičkih varijacija izoformi enzima koji kataliziraju te reakcije na farmakokinetiku tamoksifena ili njegov klinički učinak(10).

Poluvrijeme eliminacije tamoksifena je 5-7 dana, a njegovog najvažnijeg metabolita N-demetiltamoksifena 14 dana. Primarno se izlučuje iz organizma putem stolice(15).

## Nuspojave

Tamoksifen uglavnom dobro se podnosi i najozbiljnije su nuspojave rijetke(15). Najčešće nuspojave jesu naleti vrućine, mučnina i povraćanje prisutni u 25 % bolesnica(11). Smatra se da naleti vrućine ili valunge nastaju zbog smanjene koncentracije estrogena koja dovodi do povećane osjetljivosti hipotalamusa, glavnog termostata u organizmu(16). U vrlo česte nuspojave ubrajaju se depresija, periferni edemi, hipertenzija, promjene raspoloženja, bol, kožne promjene i osipi, umor i opća slabost, artritis, artralgiya, limfedem i faringitis. Manje česte nuspojave jesu nesаница, glavobolja, vrtoglavica, porast tjelesne težine, bol u trbuhu, proljev, urinarne infekcije, trombocitopenija, bol u leđima, alopecija i bol u kostima(15). Osim ranije navedenog rizika za karcinom endometrija koji je iznosi 0,6% tijekom 5 godina, odnosno 1,1% tijekom 10 godina, vaginalno krvarenje je najčešće od ginekoloških stanja uz terapiju tamoksifenom(2,15). Povećana je incidencija i za razvoj drugih ginekoloških bolesti i stanja poput hiperplazije endometrija, polipa endometrija, adenomioze, mioma, sarkoma, polipa vrata maternice, krvarenja iz maternice i cisti jajnika. Stoga je bolesnicama s rakom dojke tijekom terapije tamoksifenom preporučeno redoviti ginekološki ultrazvučni pregled, svakih 4-6 mjeseci, ili barem jednom godišnje(17). Povećana je incidencija tromboembolijskih zbivanja, što bi se djelomično moglo objasniti tendencijom tamoksifena da smanjuje vrijednosti antitrombina III i proteina C u krvi, koji su dio koagulacijskog sustava(18). Važno je redovito pratiti i vrijednosti jetrenih enzima zbog čestog nastanka masne jetre i steatohepatitisa(19). Moguć je i razvoj različitih poremećaja oka poput retinopatije, katarakte, keratopatije i neuritisa vidnog živca. Djelovanje tamoksifena na oko nije u potpunosti razjašnjeno, ali toksični učinak u

rožnici i mrežnici oka objašnjava se njegovim vezanjem za polarne lipide, što dovodi do nakupljanja lipida u stanici i u staničnim lizosomima, uz moguće dodatno djelovanje oksidativnog stresa(20). Ukoliko su prisutne metastaze u kostima, moguća je i hiperkalcemija(15).

### 2.3. Inhibitori sinteze estrogena

Nazivaju se još inhibitorima aromataze zbog svojeg mehanizma djelovanja. Aromataza je enzim koji katalizira aromatizaciju jednog od prstena u kemijskoj strukturi muških spolnih hormona testosterona i androstendiona, dovodeći do stvaranja estrogena(7). S obzirom da testosteron i androstendion iz kojih nastaje estrogen izlučuju se iz nadbubrežne žlijezde, a ne iz jajnika, ova vrsta liječenja najviše primjenjuje se u postmenopauzalnih žena. S obzirom na razliku u kemijskoj građi, postoje dvije skupine inhibitora sinteze estrogena, a to su steroidni i nesteroidni inhibitori aromataze. Steroidni inhibitori aromataze ujedno se vežu kovalentnom vezom za aktivno mjesto na aromatazi ireverzibilno je tako inaktivirajući, a nesteroidni slabijom nekovalentnom i reverzibilnom vezom pa ih androgeni mogu istisnuti s veznog mjesta. Najvažniji predstavnik steroidnih inhibitora aromataze je egzemestan, a nesteroidnih inhibitora aromataze anastrozol i letrozol(3).

#### 2.4. Aditivna terapija

Od aditivne terapije najviše u upotrebi su gestageni(3). Farmakološkim učinkom i kemijskom strukturom najbliži su progesteronu, najvažnijem gestagenu u čovjeka(11). Primjenjuju se nakon neuspjele terapije antiestrogenima i inhibitorima aromataze u liječenju metastatskog, hormonski ovisnog raka dojke s udaljenim metastazama. Pomoću više mehanizama ostvaruju svoj učinak u terapiji hormonski ovisnih karcinoma dojke: inhibicija lučenja LH i FSH smanjujući koncentraciju estrogena, poticanje pretvorbe estrogenskog steroidnog hormona estradiola u manje aktivni estriol te sprječavanje sekrecije adrenokortikotropnog hormona (ACTH) iz hipofize smanjujući stvaranje androgena u nadbubrežnoj žlijezdi iz koji posredovanjem aromataze nastaje estrogen. Najznačajniji predstavnici jesu megestrol i medroksiprogesteron(3).

### 3. FARMAKOGENETIKA I FARMAKOGENOMIKA

Farmakogenetika i farmakogenomika dio su suvremene medicine koji proučava genetske čimbenike koji uzrokuju varijabilni učinak lijeka u pojedinaca. Farmakogenetika bavi se međudjelovanjem lijeka i određenog gena, a farmakogenomika proučava utjecaj većeg broja gena pa i cjelokupnog genoma na djelotvornost i nuspojave pojedine terapije(21).

Razvoj znanstvenog područja koje se bavi interakcijom gena i lijekova započeo je nakon što se primijetilo da pojedinci za koje je utvrđeno da su nositelji varijacija gena za enzime koji sudjeluju u metabolizmu lijekova, razvijaju određene nuspojave primjenom terapije(22). Vrhunac razvoja uslijedio je sekvenciranjem ljudskog genoma, što je omogućilo analizu velikog broja gena i otkrivanje novih varijacija gena(21).

Istovremeno uvodi se i novi pojam „precizna medicina“, odnosno „personalizirana ili stratificirana medicina“, u kojoj se odabir i doziranje terapije temelji na dobivenim informacijama o genima pojedinaca(22,23). S ciljem brže kliničke implementacije farmakogenetike stvorena je mreža farmakogenetičkih društava na međunarodnoj razini, a među njima najvažnija je The Pharmacogenomics Knowledge Base (PharmGKB, <http://www.pharmgkb.org>)(23). Utemeljena su i udruženja pod nazivima Konzorcij za kliničku primjenu farmakogenetike ( engl. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium, CPIC) te Nizozemska radna skupina za farmakogenetiku ( engl. The Dutch Pharmacogenetics Working Group, DPWG), s glavnim ciljem izdavanja smjernica i preporuka za primjenu terapije prema genotipu pojedinca na temelju najnovijih informacija iz područja farmakogenomike, čime je omogućen učinkovitiji pristup liječenju(21,23). Naime, više od 95% populacije sadrži kao sastavni dio genoma barem jednu varijaciju tzv. djelotvornog ( engl. „actionable“) farmakogena za koji postoji smjernica za doziranje lijeka(21). Podatci dobiveni farmakogenetičkim analizama najviše se koriste prilikom oblikovanja terapijskih indikacija, doziranja lijekova i kontraindikacija(23).

S obzirom da se procjenjuje da genetička varijabilnost ima od 25 do čak 50% udjela u ukupnoj pojavnosti neočekivanih reakcija na lijek, jedna od ključnih prednosti primjene farmakogenomike u kliničkoj praksi je i pravovremeno otkrivanje bolesnika s povećanim rizikom za razvoj neželjenih nuspojava na određene lijekove i prije početka primjene pojedine terapije(21,23). Također postoji sve više smjernica koje ističu važnost implementiranja farmakogenomike u procesu razvoja novih lijekova(23).

#### 4. BIOTRANSFORMACIJA LIJEKOVA

Svakodnevno ljudi se izlažu ksenobioticima - stranim kemijskim tvarima iz okoliša. U organizam dospjevaju namjerno ili slučajno, najčešće konzumacijom hrane i pića te apsorpcijom preko kože ili pluća. Kada su sastavni dio zraka, vode ili hrane, izloženost je neizbježna. Neki od ksenobiotika nisu štetni za čovjeka, a mnogi pokrenu različite biološke reakcije.

Glavnu ulogu u izlučivanju i dovršavanju biološke aktivnosti različitih stranih kemijskih spojeva pa i lijekova, ima bubreg. Organizam rješava se na taj način potencijalnih štetnih tvari i njihovih metabolita. Međutim, da bi se neka tvar mogla izlučiti bubrezima, mora biti polarne građe, što podrazumijeva postojanje funkcionalnih skupina koje u potpunosti ioniziraju pri fiziološkoj pH vrijednosti, te malog molekularnog volumena. Kemijski spojevi koji nisu polarne građe, velikog su molekularnog volumena ili su čvrsto vezani za proteine plazme prolaze alternativne metaboličke procese u drugim organima. Temeljni organ u kojem se odvija metabolizam lijekova, odnosno biotransformacija, je jetra. Druga tkiva sa znatnijom metaboličkom aktivnosti jesu crijeva, pluća, koža, bubrezi i mozak, iako svaki organ ima određenu sposobnost transformacije lijekova. Ksenobiotici lipofilne građe tada transformiraju se u hidrofилne, polarne spojeve koji se posljedično mogu izlučiti iz organizma.

Biotransformacija lijekova vremenski zbiva se između apsorpcije lijeka u sistemski krvotok i njegova izlučivanja bubrezima(24). Ovisno o njezinim svojstvima, unesena tvar metabolizmom može postati manje aktivna/inaktivna, pojačano aktivna ili toksična, odnosno moguća su tri temeljna ishoda transformacije lijeka: detoksikacija i izlučivanje lijeka iz organizma, pretvorba u farmakološki aktivnu tvar i stvaranje toksičnih

metabolita(23,24). Većina lijekova nakon oralne primjene apsorbira se u tankom crijevu, nakon čega ulaze u portalni krvotok i dolaze do jetre gdje se odvija njihova biotransformacija- to je tzv. učinak prvog prolaska. Neki lijekovi poput klonazepama, klorpromazina, ciklosporina i midazolama metaboliziraju se u značajnijoj mjeri u tankom crijevu nego u jetri- čak 50% midazolama podliježe intestinalnoj transformaciji. To je posebno važno u bolesnika s funkcionalnim oštećenjem jetre jer eliminacija lijeka više ovisi o intestinalnom metabolizmu.

Proces biotransformacije dijele se u dvije glavne skupine: reakcije I. i II. faze. Tijekom reakcije I. faze uneseni lijek metabolizira se u polarniji oblik uvođenjem ili otkrivanjem funkcionalne skupine poput hidroksilne (-OH), aminoskupine (-NH<sub>2</sub>) ili sulfhidrilne (-SH)-stvoreni metaboliti su najčešće inaktivni, a u nekim slučajevima pojačano ili modificirano aktivni. Ako metaboliti nastali u I. fazi nisu dovoljno polarni da se brzo izluče iz organizma, podliježu reakcijama II. faze u kojima metabolit se preko novougrađenih funkcionalnih skupina veže za endogeni supstrat poput sumporne, glukuronske, etanske ili aminokiseline stvarajući konjugat visoke polarnosti. Stvoreni konjugati najčešće su inaktivni i lako se eliminiraju iz organizma.

Iako se mogu odvijati spontano u in vivo uvjetima, većina reakcija biotransformacije su katalizirane, odnosno zbivaju se pomoću različitih specifičnih enzima koji u stanicama mogu se nalaziti u endoplazmatskom retikulumu, mitohondrijima, citoplazmi, lizosomima, jezgrinoj ovojnici ili u plazmatskoj membrani. U endoplazmatskom retikulumu smješteni su obično unutar mjehurića koji se nazivaju glatki mikrosomi. Neki lijekovi i drugi ksenobiotici mogu opisanim enzimima inducirati, odnosno poticati, ili



inhibirati njihovu metaboličku aktivnost. To je posebno značajno u procjeni mogućih interakcija između više istovremeno primjenjenih lijekova(24).

#### 4.1.1. Citokrom P450 (CYP)

Citokrom P450 mikrosomski je enzim odgovoran za više od 90% svih oksidacijskih reakcija u biotransformaciji lijekova(23). Dobio je naziv zbog svojih spektralnih osobina- u reduciranom obliku veže ugljikov monoksid stvarajući tako kompleks koji maksimalno apsorbira svjetlost na 450 nm.

S obzirom da su dostupni u većoj količini u odnosu na reduktaze, citokromi P450 predstavljaju ograničavajući korak (engl. rate-limiting) u oksidaciji lijekova u jetri. Smatraju se ujedno i tromim katalizatorima- reakcije koje se odvijaju putem njih su znatnije sporije u odnosu na druge enzime(24).

Postoji više varijanti, odnosno izoformi citokroma P450, od kojih su najvažnije CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1 i CYP3A4. Na njih redom otpada 15 %, 4 %, 1 %, 20 %, 5 %, 10 % i 30 % od ukupne količine jetrenih enzima P450 u ljudskom organizmu. Sam CYP3A4 odgovoran je za metabolizam za više od 50% lijekova(23,24).

Neki lijekovi supstrati za citokrom P450 mogu ponovljenom primjenom inducirati ekspresiju tih istih enzima, što dovodi do ubrzanog metabolizma samog lijeka i njegove smanjene učinkovitosti, ali i drugog istovremeno primijenjenog lijeka ako je također supstrat za citokrom P450. S druge strane, primjenom terapije koja metaboličkim djelovanjem P450 pretvara se u aktivni oblik, indukcijom može se pogoršati njezin toksičan učinak.

Postoje i lijekovi koji mogu inhibirati enzimsku aktivnost P450, sprječavajući tako metabolizam drugih supstrata . Na primjer, lijekovi koji u kemijskoj strukturi sadrže imidazolski prsten poput cimetidina ili ketokonazola, čvrsto vežu željezo iz hema P450 i kompetitivnom inhibicijom onemogućuju metabolizam drugih endogenih supstrata poput testosterona ili drugih istovremeno primijenjenih lijekova supstrata za P450(24).

## 5. GENETIČKI POLIMORFIZAM ENZIMA BIOTRANSFORMACIJE

Genetički polimorfizam je pojava varijantnog alela gena s učestalošću većom od 1% u populaciji dovodeći do izmijenjene ekspresije gena/genotipa, sa ili bez posljedične promjene u genskom produktu i njegovoj funkciji ili aktivnosti, odnosno fenotipu(24,25).

Polimorfizmi gena nastaju kao posljedica mutacija u gametama, zbog čega se prenose na potomstvo. Stoga te mutacije ne izazivaju smrtni ishod ili neplodnost jer upravo prirodnom selekcijom povećava se njihova frekvencija u populaciji(25).

Enzimi obje faze biotransformacije pokazuju značajnu genetičku polimorfnost, pridonoseći varijabilnoj farmakokinetici (apsorpciji, raspodjeli, metabolizmu i izlučivanju), učinkovitosti primijenjene terapije i razvoju nuspojava. S obzirom da enzimi I. faze kataliziraju više od 75% lijekova koji se svakodnevno propisuju, njihovi polimorfizmi mogu vrlo utjecati na njihov konačni učinak u organizmu(22).

Prema brzini i sposobnosti biotransformacije lijeka razlikovana su do 2017.g. terminološki četiri fenotipa metaboličkih enzima:

- 1) slabi/spori metabolizator (engl. poor metabolizer, PM)
- 2) srednje brzi metabolizator (engl. intermediate metabolizer, IM)
- 3) brzi metabolizator (engl. extensive metabolizer, EM)
- 4) vrlo brzi metabolizator (engl. ultrarapid metabolizer, UM).

S dostupnošću informacija o genotipovima uvelo se novo nazivlje za određivanje brzine metabolizma lijekova u pojedinca. Upotrebljavaju se diplotipovi od kojih svaki čine jedan alel od majke a drugi od oca. Svaki alel označava se zvjezdicom (\*) i definira se specifičnom varijacijom sekvence unutar genskog lokusa, poput polimorfizma jednog nukleotida (engl. single nucleotide polymorphisms, SNP). Kada je karakterizacija funkcije alela poznata, npr. 0 za nefunkcionalnost, 0,5 za smanjenu funkciju i 1,0 za potpunu funkciju, može im se odrediti zbroj funkcionalne aktivnosti (engl. functional activity score). Neki geni, poput CYP2D6, mogu biti u potpunosti izbrisani, ali i udvostručeni/umnogostučeni, što se obilježava \*1xN, \*2xN – N predstavlja broj kopija. Ako postoji više od jedne kopije gena, rezultat aktivnosti pomnoži se brojem kopija.

Aktivnost enzima je kodominantno svojstvo. To znači ako genotip osobe sadrži jedan alel normalne funkcije i drugi nefunkcionalni alel, on će imati srednju metaboličku aktivnost tj smatra se intermedijarni metabolizator (IM).

Zbroj alelne aktivnosti je uglavnom između 0 i  $\geq 3,0$  te se uglavnom rabi za definiranje fenotipova:

- 1) 0 = slabi/spori metabolizator (engl. poor metabolizer) (PM)
- 2) 0,5 = srednje brzi/ intermedijarni metabolizator (engl. intermediate metabolizer) (IM)
- 3) 1,0–2,0 = brzi/normalni metabolizator (engl. extensive/ normal metabolizer) (EM)
- 4)  $\geq 2,0$  = vrlo brzi metabolizator (engl. ultrarapid metabolizer) (UM)(22).

### 5.1. Citokrom P450 2D6 (CYP2D6) i polimorfizam gena CYP2D6

Putem CYP2D6 enzima ostvaruje se metabolizam oko 25% lijekova koji se svakodnevno primjenjuju u kliničkoj praksi, uključujući antidepresive (paroksetin, fluoksetin, venlafaksin), antipsihotike (npr. aripiprazol, risperidon), opioidne analgetike (npr. kodein, tramadol), beta blokatore (karvedilol, metoprolol), antiaritmike (flekainid, propafenon), antiemetike (ondansetron), antineoplastike (npr. tamoksifen) i dr. Jedini je od svih CYP enzima koji nije podložan indukciji, stoga genetička varijabilnost izrazito utječe na njegovu enzimsku aktivnost.

Gen za CYP2D6 smješten je na 22. kromosomu na lokaciji 22q13.1 te sadrži 9 egzona koji kodiraju 497 aminokiselina. Vrlo je polimorfan(21). U repozitoriju PharmVar, bazi Konzorcija za varijacije farmakogena (The Pharmacogene Variation Consortium) zabilježeno je trenutno više od 170 definiranih različitih alela ovog gena, poznate i nepoznate funkcionalnosti(26). Varijabilnosti CYP2D6 podrazumijevaju razne promjene na razini gena: SNP, male insercije i delecije, varijacije broja kopija (engl. copy number variation, CNV), preslagivanje gena i hibridne pseudogene. Varijacije broja kopija su udvostručenja/umnogostručenja cijelog gena, a pseudogen je nefunkcionalni gen nalik nekom funkcionalnom genu, a nastaje uglavnom duplikacijom gena prilikom čega dolazi do stvaranja mutacija i posljedične nefunkcionalnosti. Pojava pseudogena je vrlo karakteristična za gen CYP2D6- postoje dva pseudogena vrlo slična genu CYP2D6: CYP2D7 i CYP2D8(27). CYP2D7 i CYP2D8 također sadrže 9 egzona te smješteni su 9 i 19 kbp uzvodno od CYP2D6 te pokazuju 94,2 % i 89,1% sličnosti s genom CYP2D6, a CYP2D7 ima i jednak 0,6 kbp dug nizvodni segment parova baza(28).

Poznavanje pseudogena važno je prilikom genetičkog testiranja jer ih je nužno razlikovati od gena koji se ispituje(29).

Sve navedene varijacije genotipa mogu dovesti do fenotipa dokinute, smanjene, potpune i pojačane funkcije enzima. Dakle, s obzirom na sposobnost metaboliziranja CYP2D6 supstrata, slično kao i za druge metaboličke enzime, da bi se predvidjeli terapijski i štetni učinci nakon primjene supstrata CYP2D6, klinički su definirana četiri metabolička fenotipa: slabi/spori (PM) , intermedijarni (IM), normalni (NM) i vrlo brzi metabolizatori (UM).

Za definiranje fenotipova prema genotipu CYP2D6 trenutno koristi se zbroj alelne aktivnosti:

- 1) 0 = slabi/spori metabolizator (engl. poor metabolizer, PM)
- 2)  $0 < X < 1,25$  = intermedijarni metabolizator (engl. intermediate metabolizer, IM)
- 3)  $1,25 \leq X \leq 2,25$  = normalni metabolizator ( engl. normal metabolizer, NM)
- 4)  $> 2,25$  = vrlo brzi metabolizator (engl. ultrarapid metabolizer, UM)(29).

U svijetu najučestaliji su normalni i intermedijarni CYP2D6 metabolizatori. Fenotip normalnih metabolizatora čini 43–67% svjetske populacije, a intermedijarnih nešto manje, 10–44%(30). Normalni metabolizatori sadrže dva potpuno aktivna alela i pokazuju očekivani terapijski učinak pri standardnim dozama. Intermedijarni metabolizatori su ili homozigoti za dva alela smanjene aktivnosti ili heterozigoti-nositelji jednog inaktivnog alela te oni mogu doživjeti nuspojave u nešto manjem opsegu u odnosu na spore metabolizatore. Jednim istraživanjem (Kiyotani K, Mushiroda i sur, 2010.g.) pokazano je da je visoka učestalost intermedijarnih metabolizatora s alelima CYP2D6\*4 i \*10 u postmenopauzalnih bolesnica liječenih tamoksifenom(35). Fenotipi slabih/sporih i ultrabrzih metabolizatora manje su česti i ujedno s većim rizikom za štetne učinke ili neučinkovitost terapije ukoliko se lijek biotransformira putem CYP2D6. U Hrvatskoj 5,6 % populacije čine spori metabolizatori , a 4,4% populacije u svom genomu sadrži duplikacije alela CYP2D6. Važno je naglasiti da 1% tih duplikacija su od nefunkcionalnih alela, što se zasada smatra nedefiniranim fenotipom. Veća učestalost vrlo brzih metabolizatora u Europi je u mediteranskim državama, kao što su Grčka (7,4%), Turska (8,7%), Italija (10%) i Španjolska (7-10%), u odnosu na hrvatsku populaciju(33). Slabi/spori metabolizatori sadrže inaktivne alele pa pri prosječnim dozama lijekova mogu imati više nuspojava zbog smanjenog metabolizma i posljedične povišene koncentracije lijeka u organizmu, a ako prime predlijeke može izostati terapijski odgovor zbog niže koncentracije aktivnog metabolita (npr. tamoksifen i kodein i varijante gena CYP2D6). Vrlo brzi metabolizatori imaju više od dviju kopija aktivnih gena te primjenom standardnih doza lijekova u ovih osoba može izostati postizanje potrebnih terapijskih koncentracija i posljedično učinkovitost lijeka.

Primjenom predlijeaka, vrlo brzi metabolizatori mogu razviti nuspojave zbog koncentracija viših od očekivanih aktivnog metabolita (npr. CYP2D6 gen i biotransformacija kodeina u morfin(32).

U kliničkoj praksi provodi se genotipizacija samo alela poznatog učinka i dovoljne učestalosti u pojedinoj populaciji, što znači da još nedovoljno istraženi i rijetki polimorfizmi, ukoliko postoje i ujedno su značajni, neće biti otkriveni. Više od 95% fenotipova može se predvidjeti analizom tek devet alela: CYP2D6 \*3,\*4,\*5,\*6 nefunkcionalni, aleli \*10,\*17,\*41 smanjenje funkcije te aleli \*1 i \*2 potpuno funkcionalni(22).



Učestalost pojedinih alela nije ista među ljudima različitih rasa i etnita, što dovodi do različitih fenotipskih osobina metabolizma i transporta lijekova (22). Najučestaliji nefunkcionalni alel CYP2D6 \*4 nalazi se u oko 20% Europljana, a gotovo je odsutan (<1%) u Azijata. Najzastupljeniji alel smanjene funkcije u Azijata je \*10 (~40%), što dovodi do velikog broja intermedijarnih metabolizatora (IM) u populaciji. Također učestalost UM za CYP2D6 u nordijskim je populacijama iznosi 1 %, u mediteranskim 4 – 8 %, a u nekim afričkim populacijama poput etiopske je 29 %. To je posebno važno poznavati prilikom usporedbe rezultata farmakokinetičkih istraživanja i doziranja pojedinih lijekova jer mogu postojati značajne razlike za određene podskupine fenotipski specifičnih bolesnika u pojedinim populacijama. S druge strane, delecija gena za CYP2D6\*5 relativno je slične učestalosti (~3-5%) u europskim, azijskim i afričkim populacijama. To ukazuje da se ta mutacija najvjerojatnije dogodila prije odvajanja triju glavnih rasa, što je bilo prije više od 100.000 godina(23). U hrvatskoj populaciji nefunkcionalni aleli \*3, \*4, \*5 i \*6 slično su zastupljeni kao i u ostatku europske populacije, s najučestalijim nefunkcionalnim \*4, odnosno najviše sporih metabolizatora ima taj alel(33).

Američka Agencija za hranu i lijekove (engl. Food and Drug Administration, FDA) navodi CYP2D6 u uputama više od 70 različitih lijekova(21). Također ispitana je klinička važnost CYP2D6 za najmanje 48 lijekova i do danas su za 26 lijekova razvijene djelotvorne terapijske preporuke temeljene na CYP2D6(33).

## 6. UTJECAJ POLIMORFIZMA CYP2D6 NA TERAPIJU TAMOKSIFENOM

Biotransformacijom tamoksifena nastaju dva temeljna bioaktivna metabolita: 4-hidroksi-N-demetiltamoksifen, odnosno endoksifen i 4-hidroksitamoksifen, s oko 100x većom antiestrogenskom potentnošću u odnosu na izvorni lijek. Najveći dio biotransformacije tamoksifena (smatra se oko 90%) uključuje demetilaciju putem CYP3A4 enzima do N-demetiltamoksifena, slabog antiestrogena i nadalje oksidaciju putem CYP2D6 enzima konačno do endoksifena. S obzirom da su ujedno koncentracije endoksifena u plazmi oko 10x više u odnosu na 4-hidroksitamoksifen, za endoksifen smatra se da najviše pridonosi antiestrogenskoj učinkovitosti tamoksifena u liječenju hormonski ovisnih (ER+) karcinoma dojke. Terapijski učinak tamoksifena stoga ovisi o postignutoj koncentraciji endoksifena u plazmi.

34-52 % varijabilnosti koncentracije endoksifena u plazmi pripisuje se upravo genotipu CYP2D6 enzima. Na temelju prevođenja CYP2D6 genotipa u fenotip, CPIC izdao je smjernice i preporuke za doziranje i provođenje terapije tamoksifenom. CYP2D6 normalni i vrlo brzi metabolizatori uglavnom postižu terapijske koncentracije endoksifena primjenom standardne doze tamoksifena. U pacijentica s fenotipom CYP2D6 sporih i intermedijarnih metabolizatora, koncentracije endoksifena u plazmi bit će niže u odnosu na pacijentice s fenotipom CYP2D6 normalnih metabolizatora, odnosno normalnom CYP2D6 aktivnošću, stoga imaju slabiji terapeutski učinak, povećani rizik povrata bolesti i lošije preživljenje. Jedno istraživanje (Brooks i sur., 2018.) uspoređivalo je 1514 pacijentica s kontralateralnim rakom dojke s 2203 bolesnice s jednostranim rakom dojke iz SAD-a i pokazano je da fenotip CYP2D6 može imati važnu ulogu u riziku od razvoja kontralateralnog raka dojke u bolesnika liječenih

tamoksifenom. Drugim istraživanjem (Malash i sur., 2020.g.) otkriveno je najčešće polimorfne varijante u refraktornoj skupini prethodnog istraživanja bile su CYP2D6 \*3,\*4, koji su ujedno i najčešći slabi metabolizatori(34). S obzirom da se pokazalo da pacijentice s fenotipom sporih metabolizatora koje su prešle s tamoksifena na inhibitor aromataze anastrozol nemaju povećan rizik recidiva bolesti, preporučuje se uvođenje alternativne hormonske terapije: u postmenopauzi terapija inhibitorima aromataze, a u premenopauzi uz inhibitore aromataze i ovarijska supresija. Ne preporučuje im se povećanje doze tamoksifena jer ni tada se ne postiže koncentracija koju postižu normalni metabolizatori, jedino ako su inhibitori aromataze kontraindicirani. U CPIC smjernicama posebno označeni su i intermedijarni metabolizatori u kojima je alel \*10 nije prisutan jer za njih nema dovoljno podataka o farmakokinetici i ishodu liječenja, posljedično preporuka je „opcionalna“. U ostalih intermedijarnih metabolizatora preporuka umjereno snažne razine dokaza preporučuje uvođenje alternativne terapije inhibitorima aromataze u postmenopauzalnih žena uz ovarijsku supresiju za žene u premenopauzi. Ako postoji kontraindikacija za njihovu primjenu, može se primijeniti tamoksifen u većoj dozi od 40mg/dnevno(29).

TABLICA 1. Preporuke za doziranje tamoksifena prema fenotipu CYP2D6(29)

Fenotip CYP2D6	Implikacije	Terapijske preporuke	Klasifikacija preporuke
Vrlo brzi metabolizator (UM) *1/*1xN, *1/*2xN, *2/*2xN, *2x2/*9	Terapijske koncentracije endoksifena	Izbjegavati istovremenu primjenu umjerenih i jakih inhibitora CYP2D6. Započeti terapiju standardnim dozama tamoksifena (20mg/dan)	Snažna
Normalni metabolizator (NM) *1/*1, *1/*2, *1/*9, *1/*41, *2/*2, *1/*10, *2x2/*10	Terapijske koncentracije endoksifena	Izbjegavati istovremenu primjenu umjerenih i jakih inhibitora CYP2D6. Započeti terapiju standardnim dozama tamoksifena (20mg/dan)	Snažna
Intermedijarni metabolizator (IM) (*10 alel nije prisutan) *4/*41, *1/*5, *41/*41	Manje koncentracije endoksifena u usporedbi s NM. Veći rizik recidiva raka dojke, lošije preživljenje bez događaja povezanih s bolesti i lošije preživljenje bez recidiva bolesti u usporedbi s NM	Razmotriti uvođenje hormonske terapije poput inhibitora aromataze za žene u postmenopauzi, ili inhibitora aromataze uz ovarijsku supresiju kod žena u premenopauzi. Ovi pristupi smatraju se boljima od primjene tamoksifena neovisno o genotipu CYP2D6. Ako je primjena inhibitora aromataza kontraindicirana, razmotriti uvođenje veće doze tamoksifena (40 mg/dan). Izbjegavati primjenu jakih do slabih inhibitora CYP2D6.	Opcionalna
Intermedijarni metabolizator (IM) (*10 alel prisutan) *4/*41, *1/*5, *41/*41, *4/*10, *10/*10			Umjerena

<p>Slabi/spori metabolizator (PM)</p> <p>*3/*4, *4/*4, *5/*5, *5/*6</p>	<p>Manje koncentracije endoksifena u usporedbi s NM. Veći rizik recidiva raka dojke, lošije preživljenje bez događaja povezanih s bolesti i lošije preživljenje bez recidiva bolesti u usporedbi s NM</p>	<p>Preporučuje se uvođenje hormonske terapije poput inhibitora aromataze za žene u postmenopauzi, ili inhibitora aromataze uz ovarijsku supresiju kod žena u premenopauzi.</p> <p>Ovi pristupi smatraju se boljima od primjene tamoksifena neovisno o genotipu CYP2D6, a pacijenti CYP2D6 PM koji prelaze s tamoksifena na anastrozol nemaju povećani rizik od recidiva. Povećanje doza tamoksifena (40 mg/dan) povećava, ali ne normalizira koncentraciju endoksifena te se može razmotriti njihovo uvođenje u pacijenata kod kojih je kontraindicirana terapija inhibitorima aromataze.</p>	<p>Snažna</p>
---	---	---	---------------

## 7. ZAHVALE

*Ovim putem zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Jelena Osmanović Barilar na stručnom vodstvu i savjetima prilikom pisanja diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se i svojoj obitelji i prijateljima, najviše majci Jadranki i ocu Edvinu, koji su mi usadili ljubav prema čovjeku te bili uvijek uz mene, sestri Dijani i bratu Dini, koji su mi primjerom ukazali što znači biti požrtvovan liječnik, naročito tijekom COVID-19 pandemije te prijateljicama i kolegicama Ariani, Petri, Moreni i Ani na podršci tijekom čitavog studija.*

## 8. LITERATURA

1. Šekerija M, Čukelj P. Epidemiologija raka dojke. U: Šantek F, Beketić- Orešković L, ur. Karcinom dojke multidisciplinarno liječenje. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. Str. 1–8.
2. Bašić Koretić M, Šantek F. Sustavna terapija ranog karcinoma dojke. U: Šantek F, Beketić- Orešković L, ur. Karcinom dojke multidisciplinarno liječenje. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. Str. 85–105.
3. Vrdoljak E, Belac Lovasić I, Kusić Z, Gugić D, Juretić A, ur. Terapija u onkologiji. U: Klinička onkologija. 3. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. Str. 48–109.
4. S dopuštenjem, Yager James D., Davidson Nancy E. Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2006.;354(3):270–82, doi: 10.1056/NEJMra050776, Copyright Massachusetts Medical Society.
5. Yue W, Wang JP, Li Y, Fan P, Liu G, Zhang N, et al. Effects of estrogen on breast cancer development: role of estrogen receptor independent mechanisms. *Int J Cancer.* 15. listopad 2010.;127(8):1748–57, doi:10.1002/ijc.25207.
6. Vrdoljak E, Belac Lovasić I, Kusić Z, Gugić D, Juretić A, ur. Patološka i citološka dijagnostika. U: Klinička onkologija. 3. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. str. 43.-47.
7. Beus M, Rajić Z. Endokrina terapija hormonski ovisnog karcinoma dojke. *Farm Glas.* 2019.;75(6):445–64.
8. Vrdoljak E, Belac Lovasić I, Kusić Z, Gugić D, Juretić A, ur. Rak dojke. U: Klinička onkologija. 3. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. str. 203.-213.
9. Ray A, Ficek M. Immunomodulatory effects of anti-estrogenic drugs. *Acta Pharm.* 2012.;62(2):141-55, doi: 10.2478/v10007-012-0012-3.
10. Goetz MP, Sangkuhl K, Guchelaar H, Schwab M, Province M, Whirl-Carrillo M, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for *CYP2D6* and Tamoxifen Therapy. *Clin Pharmacol Ther.* svibanj 2018.;103(5):770–7, doi: 10.1002/cpt.1007.
11. Chrousos GP. Spolni hormoni i njihovi inhibitori. U: Katzung B i sur., ur. Temeljna i klinička farmakologija. 14.izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2020. str. 720.-746.
12. Bikle DD. Lijekovi s učincima na homeostazu minerala kosti. U: Katzung B i sur., ur. Temeljna i klinička farmakologija. 14. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2020. str. 772.-791.
13. Maruyama IN. Activation of transmembrane cell-surface receptors via a common mechanism? The “rotation model”. *Bioessays.* rujun 2015.;37(9):959–67, doi: 10.1002/bies.201500041.
14. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. TAMOXIFEN. U: Pharmaceuticals [Internet]. 2012 [citirano 04. lipanj 2024.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304326/>

15. Farrar MC, Jacobs TF. Tamoxifen. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [citirano 02. lipanj 2024.]. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532905/>
16. Mayo Clinic [Internet]. [citirano 03. lipanj 2024.]. Hot flashes-Hot flashes - Symptoms & causes. Dostupno na: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/hot-flashes/symptoms-causes/syc-20352790>
17. Puljiz M, Danolić D, Alvir I, Mamić I. Effects of Tamoxifen on the female genital tract. *Libri Oncol.* 2014.;42(1–3):63–4.
18. Meier CR, Jick H. Tamoxifen and risk of idiopathic venous thromboembolism. *Br J Clin Pharmacol.* lipanj 1998.;45(6):608–12, doi: 10.1046/j.1365-2125.1998.00733.x.
19. Tamoxifen. U: LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012 [citirano 03. lipanj 2024.]. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548902/>
20. Kaštelan S. Promjene na oku kod bolesnika s karcinomom dojke. U: Šantek F, Beketić- Orešković L, ur. Karcinom dojke multidisciplinarno liječenje. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. str. 183-202.
21. Ganoci L. Utjecaj farmakogenetičkih varijacija CYP2D6 i ABCB1 na liječenje pripravkom risperidona s produljenim oslobađanjem [dizertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2019.
22. Hibma JE, Giacomini KM. Farmakogenomika. U: Katzung BG i sur, urednik. Temeljna i klinička farmakologija. 14.izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2020. str. 74-87.
23. Božina N., ur. Farmakogenetika/farmakogenomika u personaliziranoj medicini. U: Farmakogenomika u personaliziranoj medicini. Zagreb: Medicinska naklada; 2019. str. 1-34.
24. Correia MA. Biotransformacija lijekova. U: Katzung BG i sur, urednik. Temeljna i klinička farmakologija. 14.izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2020. str. 56.-73.
25. Khan Academy India – English. DNA polymorphism | Molecular basis of inheritance | Biology | Khan Academy - YouTube [video na internetu]. [citirano 04. lipanj 2024.]. Dostupno na: <https://www.youtube.com/watch?v=i3aK0m76nDo&t=4s>
26. PharmVar [Internet]. [citirano 02. lipanj 2024.]. Dostupno na: <https://www.pharmvar.org/gene/CYP2D6>
27. Yang Y, Botton MR, Scott ER, Scott SA. Sequencing the CYP2D6 gene: from variant allele discovery to clinical pharmacogenetic testing. *Pharmacogenomics.* svibanj 2017.;18(7):673–85, doi: 10.2217/pgs-2017-0033.
28. Taylor C, Crosby I, Yip V, Maguire P, Pirmohamed M, Turner RM. A Review of the Important Role of CYP2D6 in Pharmacogenomics. *Genes.* 30. listopad 2020.;11(11):1295, doi: 10.3390/genes11111295.



29. Pseudogene [Internet]. [citirano 05. lipanj 2024.]. Dostupno na: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Pseudogene>
30. CPIC® Guideline for Tamoxifen based on CYP2D6 genotype – CPIC [Internet]. [citirano 05. lipanj 2024.]. Dostupno na: <https://cpicpgx.org/guidelines/cpic-guideline-for-tamoxifen-based-on-cyp2d6-genotype/>
31. Kane M. CYP2D6 Overview: Allele and Phenotype Frequencies. U: Medical Genetics Summaries [Internet] [Internet]. National Center for Biotechnology Information (US); 2021 [citirano 07. lipanj 2024.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK574601/>
32. Thota K, Prasad K, Rao MVB. Detection of Cytochrome P450 Polymorphisms in Breast Cancer Patients May Impact on Tamoxifen Therapy. *Asian Pac J Cancer Prev APJCP*. 2018.;19(2):343–50, doi: 10.22034/APJCP.2018.19.2.343.
33. Ganoci L, Božina T, Mirošević Skvrce N, Lovrić M, Mas P, Božina N. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes: CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, and CYP3A5 in the Croatian population. *Drug Metab Pers Ther*. 01. ožujak 2017.;32(1):11–21, doi: 10.1515/dmpt-2016-0024.
34. Božina N. Farmakogenomika i farmakovigilancija. *Medicus*. 26. srpanj 2017.;26(1 Farmakovigilancija):13–22.
35. Malash I, Mansour O, Shaarawy S, Abdellateif MS, Omar A, Gaafar R, et al. The Role of CYP2D6 Polymorphisms in Determining Response to Tamoxifen in Metastatic Breast Cancer Patients: Review and Egyptian Experience. *Asian Pac J Cancer Prev APJCP*. prosinac 2020.;21(12):3619–25, doi: 10.31557/APJCP.2020.21.12.3619.

## 9. ŽIVOTOPIS

Edita Bešić rođena je 3.10.1998. u Zagrebu. Do 2013. g. pohađa Osnovnu školu Retkovec te iste godine upisuje Drugu gimnaziju u Zagrebu. Nakon mature, 2017. g. upisuje studij medicine na Medicinskom fakultetu u Zagrebu.

Tijekom studiranja sudjelovala je u aktivnostima Studentske sekcije za javno zdravstvo i Studentske sekcije za hipertenziju. Aktivno služi se engleskim i njemačkim jezikom. U slobodno vrijeme uči talijanski, francuski i turski jezik.