

Influence of genetic factors on drug treatment efficacy and safety in cardiovascular diseases

Czynniki genetyczne a skuteczność i bezpieczeństwo farmakoterapii w chorobach sercowo-naczyniowych

Barbara Gawrońska-Szklarz

Department of Pharmacokinetics and Therapeutic Drug Monitoring, Pomeranian University of Medicine, Szczecin, Poland (Zakład Farmakokinetyki i Terapii Monitorowanej, Katedra Farmakologii, PAM w Szczecinie)

Abstract

Drug treatment is in many cases ineffective. Besides patients who do not respond to the treatment, adverse drug reactions as a consequence of the treatment are a major clinical problem. This review presents clinical implications and molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolizing enzymes (CYP2C9, CYP2D6, CYP3A), drug transporters (P-glycoprotein) and drug receptors, which play a significant role in intersubject variability. Polymorphisms in the genes can affect an individual's risk of having an adverse drug reaction, or can alter the efficacy of drug treatment in that individual.

Key words: genetic polymorphism, adverse drug reactions, interactions, cytochrome P450-dependent enzymes, P-glycoprotein, receptors, single nucleotide polymorphism (SNP)

Streszczenie

Farmakoterapia może być w wielu przypadkach nieskuteczna lub spowodować niebezpieczne dla życia działania niepożądane. Jednym z powodów może być osobnicza wrażliwość pacjenta na podany lek, związana z jego genotypem. W artykule opisano istotne klinicznie polimorfizmy genów kodujących: enzymy metabolizujące leki (CYP2C9, CYP2D6, CYP3A), białka transportujące leki przez błony biologiczne (glikoproteina-P) oraz receptory farmakologiczne leków, ze szczególnym uwzględnieniem leków stosowanych w chorobach sercowo-naczyniowych. Polimorfizmy te są spowodowane zamianą pojedynczych nukleotydów, rzadko delecją lub insercją nukleotydów. Mogą one być przyczyną braku efektów terapeutycznych lub groźnych dla życia działań niepożądanych.

Słowa kluczowe: polimorfizm genetyczny, działania niepożądane, interakcje, enzymy cytochromu P450, glikoproteina-P, receptory, polimorfizm pojedynczych nukleotydów (SNP)

Introduction

Drug-related adverse reactions and drug refractoriness are major problems of pharmacological therapy. The incidence of adverse drug reactions in hospitalised patients is 6.7% with as much as 0.32% of cases classified as life-threatening, each year causing over 100,000 deaths in the US [1–3]. Effectiveness and safety of drug

Wstęp

Jednym z ważnych problemów współczesnej farmakoterapii są szkodliwe następstwa podjętego działania leczniczego lub brak efektów po zastosowanym leczeniu. Częstość występowania działań niepożądanych leków u hospitalizowanych pacjentów ocenia się na 6,7%, z czego 0,32% stanowią groźne dla życia powi-

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Prof. dr hab. med. Barbara Gawrońska-Szklarz, Zakład Farmakokinetyki i Terapii Monitorowanej, Katedra Farmakologii, PAM
Al. Powstańców 72, 70–111 Szczecin, Poland
tel/fax: +48 (0 91) 466 16 00, e-mail: gszklarz@sci.pam.szczecin.pl

treatment have been evaluated in 14 prospective studies of in-patient population in the US. Meta-analysis of the studies showed that in 20–75% of patients pharmacological therapy was ineffective while costs of adverse reactions treatment had been rising [1, 2]. The estimates for European countries are similar. Classen et al. [2] showed that in 2227 cases (42%) the major cause of adverse reactions was a drug dose not tailored to patient's genotype. Factors modifying drug action in a patient include gastrointestinal diseases, hepatic and renal insufficiency, age, gender, environmental factors (diet, alcohol ingestion, smoking) and drug interactions but also genetically determined drug responsiveness of an individual. Genetic variation in pharmacodynamic response due to qualitative or quantitative alterations in drug actions has been known long since. One of the typical examples of genetic qualitative variation in pharmacodynamic reaction is relatively prevalent in humans drug-related haemolytic anaemia due to glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Drug treatment with oxidising agents such as sulphonamides, sulphons, sulphonylurea derivatives, anilin derivatives, quinolin derivatives or synthetic vitamins K (menadione), results in haemolytic anaemia in genetically susceptible humans [4, 5].

Pharmacokinetics and polymorphism

Genetically determined drug response of an individual may cause substantial variations in pharmacokinetics due to metabolic reactions resulting in defective drug elimination. Recent studies have shown that drug absorption and distribution may be genetically determined as well. The discovery of genetically determined variations in activity of drug-metabolising enzymes marked the advent of pharmacogenetics, a new science [6, 7]. It has led to identification of mechanisms underlying individual drug response in a population as well as inter-racial and ethnic differences [6–8]. Variation in biotransformation process is the reason of the fact that the same drug dose may prove ineffective in one patient while causing major adverse reactions in another. Such inter-subject variability of drug action is frequently related to individual genotype particularly in cases when drug-metabolising enzyme is encoded by a single gene with 2 different alleles in its locus, thus leading to gene polymorphism. According to Vogel and Motulsky [9] as well as Meyer [10] polymorphism is a monogenic feature resulting in situation when in a population at least two persons of 2 different genotypes with corresponding phenotypes can be found. The prevalence of each must be > 1%. Concerning gene polymorphism of drug-metabolising enzymes it means that in a population at least 2 different phenotypes can be distinguished, one

kłania związane z zastosowaną farmakoterapią, powodując w Stanach Zjednoczonych 100 000 zgonów rocznie [1–3]. Skuteczność i bezpieczeństwo terapii analizowano na podstawie 14 badań prospektywnych przeprowadzonych wśród hospitalizowanych pacjentów w Stanach Zjednoczonych. Metaanaliza wykazała, że 20–75% badanych osób nie odniosło korzyści z zastosowanej farmakoterapii, a leczenie działań niepożądanych leków pociąga za sobą coraz większe koszty [1, 2]. Statystyki w Europie są podobne. Classen i wsp. [2] wykazali, że w 2227 przypadkach (42%) głównym powodem obserwowanych działań niepożądanych było zastosowanie nieodpowiedniej do genotypu pacjenta dawki leku. Do czynników modyfikujących działanie leków u danej osoby należy zaliczyć nie tylko współistniejące choroby przewodu pokarmowego, wątroby, nerek, wiek, płeć, czynniki środowiskowe (dieta, picie alkoholu, palenie tytoniu) czy też równoczesne stosowanie innych leków (interakcje), ale także genetycznie uwarunkowane odmienne reakcje chorych na leki. Genetycznie uwarunkowane zaburzenia reakcji farmakodynamicznych były znane już od dawna. Mogą one polegać na jakościowych lub ilościowych zmianach działania leków na organizm człowieka. Przekonującym przykładem jakościowych zmian reakcji farmakodynamicznych uwarunkowanych genetycznie jest dość często występująca u ludzi polekowa niedokrwistość hemolityczna, spowodowana niedoborem dehydrogenazy glukozo-6-fosforanu. U osób z dziedzicznie uwarunkowanym niedoborem tego enzymu podanie leków o właściwościach utleniających, takich jak: sulfonamidy, sulfony, pochodne sulfonylomocznika, pochodne aniliny, pochodne chinoliny, syntetyczne witaminy K (menadion), wywołuje niedokrwistość hemolityczną [4, 5].

Polimorfizm farmakokinetyczny

Dziedzicznie zdeterminowane osobnicze różnice w działaniu leków u poszczególnych chorych mogą być powodem zmienionej kinetyki. Dotyczy to głównie procesu metabolizmu, czego następstwem jest ich zaburzona eliminacja. Badania ostatnich lat wykazały, że także procesy wchłaniania i dystrybucji mogą być uwarunkowane genetycznie. Wykrycie genetycznie uwarunkowanych różnic w aktywności enzymów metabolizujących ksenobiotyki dało początek nowej dziedzinie badań nad lekiem — farmakogenetyce [6, 7]. Dzięki temu stało się możliwe wyjaśnienie osobniczych różnic w odpowiedzi na ten sam lek w danej populacji oraz między rasami i grupami etnicznymi [6–8]. Różnice w procesie biotransformacji powodują, że ta sama dawka leku jest mniej skuteczna u niektórych chorych, a u innych wywołuje niebezpieczne działania niepożądane. Powodem

being a group of extensive metabolisers (EM), the other poor metabolisers (PM) in whom drug metabolism is impaired or abolished due to enzymatic defect. Prevalence of each phenotype may vary in different races or ethnic groups. It has been established that PM phenotype is related to homozygotic genotype with two recessive genes determining defective drug metabolism whereas EM phenotype of rapid drug metabolism consists of two genotypes, one of which is heterozygotic, the other homozygotic with two dominant genes [10]. Pharmacogenetic studies conducted recently have shown that gene polymorphism is characteristic not only for drug-metabolising enzymes but for drug transporters such as P-glycoprotein, drug receptors or other proteins associated with biological drug activity as well [4, 6, 10–12].

Gene polymorphism of xenobiotic-metabolising enzymes, drug transporters and receptors is caused by genetically transmitted mutations in DNA. Point mutations related to single nucleotide polymorphism (SNP) due to substitution of a base pair are among the most common mutations of genes encoding such proteins. Other types of mutations such as deletion or insertion of a base pair are less frequent than single base pair substitution, with whole gene deletion or amplification being an extremely rare case. DNA nucleotide mutations cause various phenotypic effects. They can for instance replace one codon for another related to a different amino acid. Single amino acid substitution in a protein encoded by a gene affected by a point mutation may lead to an absolute loss of enzyme activity or just alter it, depending on type of amino acid substitution and its location in a peptide. Insertion/deletion mutations may change properties of proteins altering their structure due to phase variation in translation process. Sometimes major alterations in DNA nucleotide sequence such as long deletions of numerous nucleotide pairs may suppress expression of a gene. Polymorphism of genes encoding drug-metabolising enzymes, drug transporters and receptors provides reasonable explanation of interpatient differences in effectiveness and safety of numerous cardiovascular drugs.

Polymorphism of drug-metabolising enzymes

Although both hydrolysis (succinylcholine) and acetylation (isoniazide) polymorphisms had been known for a long time it was the discovery of drug oxidation polymorphism that gave an impulse to thorough research of genetic differences in drug metabolism. Drug oxidation in 95% due to cytochrome P450-dependent enzymes is phase I process resulting in final inactivation and elimina-

odmienności działania farmakologicznego tego samego leku u poszczególnych osób są zmiany genotypu pacjenta, w szczególności, gdy enzym metabolizujący lek jest kodowany przez pojedynczy gen, w którego locus mogą występować 2 różne allele. Zjawisko takie nazywa się polimorfizmem genetycznym. Vogel i Motulsky [9], a następnie Meyer [10] podali definicję polimorfizmu, przyjmując, że jest to cecha monogeniczna, która powoduje, że w danej populacji można wyróżnić osoby o co najmniej 2 różnych genotypach i odpowiadających im fenotypach. Częstość każdego z nich powinna być > 1%. W przypadku polimorfizmu genów kodujących enzymy metabolizujące leki oznacza to, że w danej populacji można wyróżnić co najmniej 2 fenotypowo odmienne grupy: tzw. osoby dobrze metabolizujące dany lek (EM, *extensive metabolizer*) oraz osoby z defektem enzymatycznym, które bardzo słabo lub w ogóle nie metabolizują niektórych leków (PM, *poor metabolizer*). Częstość występowania obu fenotypów jest odmienna w poszczególnych rasach i grupach etnicznych. Okazało się, że fenotyp PM odpowiada homozygotycznemu genotypowi 2 recesywnych genów warunkujących cechę upośledzonego metabolizmu, natomiast fenotyp EM składa się z 2 genotypów, z których jeden jest hetero-, a drugi homozygotyczny dominujący, warunkujący cechę szybkiego metabolizowania [10].

Badania farmakogenetyczne ostatnich kilku lat dowiodły, że nie tylko enzymy metabolizujące leki wykazują polimorfizm genetyczny. Dotyczy on również transporterów dla niektórych leków, np. glikoproteiny-P, oraz receptorów farmakologicznych lub innych białek odgrywających rolę w mechanizmie działania leku [4, 6, 10–12].

Genetyczny polimorfizm enzymów metabolizujących ksenobiotyki, transporterów oraz receptorów dla leków jest spowodowany dziedzicznie przekazywanymi (utrwalonymi) mutacjami w DNA. Do najczęściej występujących zmian mutacyjnych w genach kodujących te białka należą mutacje punktowe powstające w wyniku zamiany jednej pary zasad na drugą. Jest to tzw. polimorfizm pojedynczych nukleotydów (SNP, *single nucleotide polymorphism*). Inne mogą polegać np. na wstawieniu (delecji) pary zasad lub odwrotnie — na wstawieniu dodatkowej pary zasad, czyli insercji. Tego typu mutacje występują znacznie rzadziej niż zmiany pojedynczych par zasad. W wyjątkowych przypadkach można zaobserwować delecję całego genu lub zwielokrotnienie kopii genu (amplifikacja genu). Mutacje w składzie nukleotydowym DNA wywołują bardzo różne efekty fenotypowe. Powodują one np. zamianę jednego kodonu w drugi, który wyznacza inny aminokwas. Pojedyncza substytucja aminokwasowa w białku kodowanym przez gen, w którym zaszła mutacja punktowa,

tion of a drug through conjugation of oxidation metabolites with endogenic compounds (glucuronic acid, sulphuric acid or glutathione) leading to synthesis of hydrophilic substances which in turn are eliminated in urine or bile.

Dozen or so drug-metabolising enzymes displaying genetic polymorphism have been identified so far. Oxidation polymorphism related to cytochrome P450 isoenzymes such as CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 or CYP3A4-A5 is one of the most thoroughly studied and clinically important, also in case of cardiovascular drugs.

CYP2C9 polymorphism

CYP2C9 isoenzyme or S-warfarin 7-hydroxylase (S-warfarin being the active warfarin isomer) is a major factor in oxidation of drugs such as warfarin-derived anticoagulants (e.g. dicumarol) or angiotensin II receptor (AT1 receptor) antagonists (irbesartan, losartan, valsartan but not candesartan) [13, 14]. Point mutations in gene encoding CYP2C9 enzyme due to nucleotides substitution leading to amino acids substitution (arginin in location 144 for cystein [R144C] and isoleucin in location 359 for leucin [I359L]) result in synthesis of CYP2C9 enzyme with reduced metabolic activity. Frequency of CYP2C9*2 (R144C) and CYP2C9*3 (I359L) alleles in Caucasian population of Europe and North America ranges 8–13% and 7–9%, respectively. In homozygotic individuals with two mutant CYP2C9*2 or *3 alleles (0.2–1%) or in heterozygotic subjects with single CYP2C9*2 or *3 mutant allele (14–37%) excessive bleedings or even major haemorrhages were observed following administration of oral anticoagulants metabolised by CYP2C9. In such persons lower doses of oral anticoagulants should be administered [6, 12, 15, 16]. CYP2C9 genotype may constitute one of factors influencing the safety of warfarin-derived anticoagulants [4]. New antihypertensive drugs of angiotensin II receptor antagonists group (AT1 receptor) are also metabolised by CYP2C9. Losartan is a substance of special interest as its active form is E3174 metabolite produced in an oxidation process catalysed mainly by CYP2C9 and to a lesser extent by CYP3A4-A5. It has been shown that in subjects with CYP2C9 dysfunction (PM) pressure-lowering activity of losartan is weaker [12, 17].

Fluvastatin is yet another cardiovascular medication oxidised by CYP2C9. Biotransformation process of the statin is catalysed mainly by CYP2C9 and to a lesser extent by CYP3A4-A5 isoenzymes [18].

Interactions of drugs metabolised by CYP2C9

Oxidative metabolism of drugs may be altered not only by genetic determinants but also by concomitant medications as well as environmental factors. Some com-

może całkowicie znosić aktywność enzymatyczną białka lub tylko ją modyfikować, zależnie od rodzaju substytucji aminokwasowej i jej położenia w peptydzie. Mutacje typu insercja-delecja mogą powodować odmienne właściwości białek kodowanych przez tak zmutowane geny, w wyniku przesunięcia fazy odczytu w trakcie translacji. Czasami duże zmiany w sekwencji nukleotydowej DNA, jak np. długie delekcje obejmujące liczne pary nukleotydów, całkowicie eliminują ekspresję różnych genów. Genetyczny polimorfizm genów kodujących enzymy metabolizujące leki, transportery i receptory dla leków pozwala wyjaśnić międzyosobnicze różnice w skuteczności i toksyczności farmakoterapii, dotyczy to także niektórych leków stosowanych w chorobach sercowo-naczyniowych.

Polimorfizm enzymów metabolizujących leki

Mimo że polimorfizmy hydrolizy (sukcynylocholina) i acetylacji (izoniazyd) znano już od dawna, dopiero odkrycie polimorfizmu oksydacji leków nadało nowy wymiar znaczeniu genetycznych różnic w metabolizmie leku. Oksydacja leków, zachodząca w ponad 95% przy udziale enzymów mikrosomalnych cytochromu P450, jest procesem I fazy, umożliwiającym ostateczne unieczynienie i eliminację leku na drodze sprzęgania powstałych w reakcjach utleniania metabolitów z endogennymi związkami (kwas glukuronowy, siarkowy i glutation). W reakcjach sprzęgania tworzą się hydrofilne produkty, możliwe do wydalenia z moczem lub z żółcią.

Dotychczas zidentyfikowano kilkanaście enzymów metabolizujących leki, które wykazują genetyczny polimorfizm. Do najlepiej poznanych i ważnych z klinicznego punktu widzenia, w tym również dla leków stosowanych w chorobach sercowo-naczyniowych, należy polimorfizm utleniania związany z izoenzymami cytochromu P450 (CYP450), takimi jak: CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 oraz CYP3A4-5.

Polimorfizm CYP2C9

Izoenzym CYP2C9, zwany także 7-hydroksylazą S-warfaryny (aktywny izomer warfaryny), odgrywa istotną rolę w utlenianiu m.in. leków przeciwzakrzepowych pochodnych warfaryny (np. dikumarol) oraz leków przeciwnadciśnieniowych antagonistów receptora AT1 dla angiotensyny II (irbesartan, losartan, walsartan, ale nie kandesartan) [13, 14]. Mutacje punktowe w genie kodującym enzym CYP2C9 spowodowane zamianą nukleotydów, prowadzące do zmiany aminokwasów: argininy w pozycji 144 na cysteinę (R144C) oraz izoleucyny w pozycji 359 na leucynę (I357L), są przyczyną syntezy enzymu CYP2C9 o zmniejszonej aktywności metabolicznej. Częstość występowania alleli CYP2C9*2 (R144C)

pounds may enhance (inducers) microsomal CYP450 enzymes activity while others inhibit it. Selective induction of enzymatic activity in EM subjects may augment differences among various phenotypes in the rate of metabolic processes. Phenotypic differences may be alleviated or completely abolished by isoenzyme (e.g. CYP2C9) activity inhibition or high occupancy in which case its metabolic action is limited even in EM subjects. Rifampicin or secobarbital are potent CYP2C9 inducers while amiodarone, cimetidine, fluconazole, ticlopidine, metronidazole, fluoxetine or isoniazide all inhibit its function [19, 20].

CYP2D6 polymorphism

One of the most thoroughly studied polymorphisms is that of CYP2D6 isoenzyme (also called debrisoquine/sparteine hydroxylase) which catalyses oxidation process of more than 40 clinically relevant substances [21–23]. Drugs metabolised by CYP2D6 include antiarrhythmic medications such as propafenone, encainide, flecainide, N-propylajmaline, sparteine, mexiletine; also some β -blockers such as alprenolol, carvedilol, metoprolol, timolol and to a lesser extent propranolol; as well as antihypertensive agents e.g. guanoxan [13, 21, 23].

As much as 17 alleles of CYP2D6 have as yet been found, 10 out of which inhibit active protein synthesis thus resulting in lack of CYP2D6 enzymatic function, another 2 reduce metabolic activity of the enzyme. In Caucasian population frequency of mutant CYP2D6 allele (PM phenotype) ranges from 7 to 10%. Among the most prevalent genetic variants associated with impaired elimination of drugs metabolised by CYP2D6 are: CYP2D6*4 (G1934A point mutation), CYP2D6*3 (A2637 deletion) and CYP2D6*5 allele (whole gene deletion) [21–24]. Duplication cases or even multiduplication (up to 12 duplicates and more) of the gene copies have been reported [25]. In subjects with multiple CYP2D6 duplicates of single allele extremely rapid oxidation rate has been observed (ultrarapid phenotype). Incidence of ultrarapid phenotype in European population is estimated at 1–2% (but in Spain — 5%) [25, 26]. Defective oxidation in PM subjects results in enhanced activity of CYP2D6-metabolised drugs [27–29], most of which are long-term therapies that in reduced clearance conditions may accumulate thus causing excessive or even toxic adverse reactions. In PM subjects following administration of metoprolol in dose 200 mg area under the curve (AUC) was 6 times greater, metoprolol half-time 3 times longer and β -blockade more potent and longer than in EM patients. Selective β_1 -receptor inhibition in case of metoprolol is fairly relative as it is absent in high concentrations resulting in non-

oraz CYP2C9*3 (I359L) ocenia się odpowiednio na 8–13% i 7–9% w populacji kaukaskiej (kraje europejskie i ludność biała Ameryki Północnej). U osobników homozygotycznych z 2 zmutowanymi allelami CYP2C9*2 lub *3 (0,2–1%) lub heterozygotycznych z 1 allelem zmutowanym CYP2C9*2 lub *3 (14–37%) obserwowano nasilone krwawienia, a nawet niebezpieczne krwotoki po stosowaniu doustnych leków przeciwzakrzepowych będących substratami dla CYP2C9. Osoby te powinny otrzymywać mniejsze dawki tych leków [6, 12, 15, 16]. Genotyp CYP2C9 może być jednym z czynników wpływających na bezpieczeństwo terapii lekami przeciwzakrzepowymi z grupy pochodnych warfaryny [4].

Substratami dla CYP2C9 są także nowe leki przeciwnadciśnieniowe z grupy inhibitorów receptora AT1 dla angiotensyny II. Z tej grupy na szczególną uwagę zasługuje losartan. Jest to lek, który działa poprzez swój aktywny metabolit E3174 powstający w procesie utleniania, katalizowanym głównie przez CYP2C9 oraz w niewielkim stopniu przez CYP3A4-A5. Wykazano, że u osobników z upośledzoną funkcją CYP2C9 (PM) efekt przeciwnadciśnieniowy losartanu był słabszy [12, 17].

Spośród innych leków stosowanych u pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi, które mogą być utleniane z udziałem CYP2C9, należy wymienić fluwastatynę. Statyna ta podlega procesowi biotransformacji katalizowanemu głównie przez CYP2C9 i w niewielkim stopniu przez izoenzym CYP3A4-A5 [18].

Interakcje substratów CYP2C9 z innymi lekami

Metabolizm oksydacyjny, poza uwarunkowaniami genetycznymi, może ulegać zmianom podczas równoczesnego stosowania innych leków lub pod wpływem czynników środowiskowych. Niektóre związki pobudzają (induktory), inne hamują (inhibitory) aktywność enzymów mikrosomalnych układu CYP450. Wybiórcza indukcja aktywności u EM może potęgować różnice szybkości metabolizmu pomiędzy fenotypami. Fenotypowe różnice mogą być zmniejszone lub całkowicie zniesione przez zahamowanie aktywności lub wysycenie izoenzymu, np. CYP2C9, wówczas nawet u EM wykazuje on ograniczoną aktywność metaboliczną. Silnymi induktorami CYP2C9 są ryfampicyna i sekobarbital, natomiast inhibitorami — amiodaron, cymetydyna, fluconazol, tiklopidyna, metronidazol, fluoksetyna, izoniazyd [19, 20].

Polimorfizm CYP2D6

Izozym CYP2D6, zwany także hydroksylazą typu debryzochiny/sparteiny, katalizuje oksydację ponad 40 klinicznie ważnych leków [21–23]. Jest najlepiej poznany polimorfizmem. Spośród leków stosowanych

selective β -blockade in PM subjects. Therefore in PM patients, particularly with obstructive lung diseases the risk of adverse events is higher than in EM phenotype subjects. Timolol, a non-selective β -blocker commonly applied in eye drops in glaucoma may cause pulmonary and cardiovascular adverse reactions in PM subjects. Metoprolol like most of β -blockers is used in the form of D- and S-enantiomer racemic mixture. It has been established that EM subjects eliminate D-metoprolol more extensively than its S-enantiomer while in PM patients D-metoprolol elimination rate is the same or slower than in case of its S-enantiomer. Since S-enantiomer is a more potent β -blocker than D-metoprolol it is expected that for the same metoprolol (S + D) concentrations its effect should be greater in EM than in PM subjects.

Efficacy and safety of antiarrhythmic drugs metabolised by CYP2D6 depends on several factors which may cause substantial interpatient variations in drug serum concentrations while using similar drug regimen [23, 29]. Subtherapeutic concentrations result in lack of therapeutic effect whereas excessively high drug levels are associated with higher risk of adverse events especially proarrhythmic effect. Extremely high risk exists in patients with PM phenotype and concomitant congestive heart failure leading to the dysfunction of organs responsible for drug elimination such as liver and kidneys.

In case of flecainide proarrhythmic effect has been observed in PM subjects with renal insufficiency (the drug is eliminated in 60% through hepatic metabolism, the rest being excreted in original form in urine).

Another example of poor therapeutic effect in PM subjects is encainide. The drug is metabolised mainly by CYP2D6 to its 10 times more potent form O-des-methylencaïnide (ODE). In PM patients drug doses required to produce therapeutic effect are higher than in EM subjects in which high levels of active metabolite are present.

Propafenone administration in PM patients may also be associated with adverse reactions affecting central nervous system due to genetically determined drug metabolism deficiency.

In CYP2D6 ultrarapid metabolisers it is impossible to obtain therapeutic levels with standard drug doses [25, 26].

CYP2D6 substrates interactions

No natural or synthetic CYP2D6 inducers have been found so far. Drugs such as quinidine, cimetidine, propafenone, fluoxetine or amiodarone have been identified as substances inhibiting CYP2D6 activity, with quinidine being a selective and potent inhibitor. Low doses of the latter in combination with a drug oxidated

w chorobach sercowo-naczyniowych substratami dla CYP2D6 są m.in. leki przeciwnadciśnieniowe, takie jak: propranolol, enkainid, flekainid, N-propylajmalina, sparteina, meksyletyna; leki β -adrenolityczne, jak: alprenolol, karwedylol, metoprolol, tymolol i w mniejszym stopniu propranolol, oraz leki przeciwnadciśnieniowe, np. guanoksan [13, 21, 23].

Liczba dotychczas poznanych alleli genu CYP2D6 wynosi 17, spośród nich 10 powoduje zahamowanie syntezy aktywnego białka i brak enzymu CYP2D6, a 2 — osłabienie jego aktywności metabolicznej. Zmutowane allele genu CYP2D6 (fenotyp PM) występują u ok. 7–10% osobników populacji kaukaskiej. Do najczęściej spotykanych wariantów odpowiedzialnych za upośledzoną eliminację substratów CYP2D6 należą w naszej populacji następujące allele: CYP2D6*4 (mutacja punktowa G1934A), CYP2D6*3 (delecja A2637) oraz CYP2D6*5 (delecja całego genu) [21–24]. Znane są także przypadki duplikacji, a nawet jeszcze większego zwielokrotnienia kopii tego genu (≥ 12 kopii) [25]. U osób z większą liczbą kopii CYP2D6 na jednym allelu stwierdza się bardzo szybkie utlenianie substratów CYP2D6 (ultraszybki fenotyp). Częstość występowania ultraszybkiego fenotypu ocenia się na 1–2% w populacji europejskiej (z wyjątkiem Hiszpanii — 5%) [25, 26].

Konsekwencją upośledzonego utleniania u PM jest nasilone działanie leków metabolizowanych przez CYP2D6 [27–29]. Większość z nich stosuje się przewlekłe, co przy zmniejszonym klirensie może powodować ich nadmierną kumulację w organizmie i nasilone działania niepożądane, a nawet toksyczne. Stwierdzono, że po doustnym podaniu 200 mg metoprololu osobie o fenotypie PM pole pod krzywą (AUC, *area under curve*) było 6-krotnie większe, okres półtrwania leku 3-krotnie dłuższy, a działanie β -adrenolityczne znacznie silniejsze i dłuższe niż u EM. Ponieważ selektywny wpływ metoprololu na receptory β_1 ma charakter względny i zanika przy dużych stężeniach, może on działać u osób z fenotypem PM jako β -adrenolityk nieselektywny. Pacjenci z fenotypem PM, zwłaszcza z zaporowymi chorobami dróg oddechowych, są więc bardziej narażeni na wystąpienie objawów niepożądanych niż chorzy z fenotypem EM. Tymolol, nieselektywny lek β -adrenolityczny, często stosuje się u osób z jaskrą. Pacjenci z fenotypem PM, przyjmując tymolol w postaci kropli do oczu, są w związku z tym narażeni na wystąpienie objawów niepożądanych ze strony układu krążenia i oddechowego. Metoprololu, podobnie jak większość leków β -adrenolitycznych, używa się w postaci mieszaniny racemicznej D- i S-enancjomerów. Wykazano, że EM eliminują w większym stopniu D- niż S-metoprolol, podczas gdy PM eliminują D-metoprolol

through CYP2D6 may change an EM phenotype person into a PM subject which may be crucial in combined treatment of cardiovascular diseases [30, 31].

CYP3A4-A5 polymorphism

CYP3A isoenzymes constitute the biggest subgroup (30%) among cytochrome P450 enzymes. They participate in oxidation of more than 100 clinically relevant drugs (50%). Cardiovascular drugs metabolised through CYP3A4-A5 include calcium channel antagonists such as nifedipine and about 20 other dihydropyridine derivatives (e.g. nifedipine, nimodipine, nisoldipine, nicardipine, felodipine); amiodarone, diltiazem, verapamil or statins such as atorvastatin, lovastatin, simvastatin (fluvastatin in a small extent as it is mainly oxidised by CYP2C9 while pravastatin being the most hydrophilic of all statins is not a subject to biotransformation processes); as well as antiarrhythmic agents such as lidocaine or quinidine [12, 18, 30, 31]. CYP3A activity is determined by three isoenzymes, namely CYP3A4, CYP3A5 and CYP3A7 the genes of which are located contiguously on 7th chromosome though their expression is independent [13, 32]. Functional CYP3A4 gene is found in liver, gut and kidneys in the majority of adult population. Isoenzymes CYP3A7 gene is active in fetus then its activity usually wanes and CYP3A7 mRNA can be traced only in a small number of adults [32, 33]. Isoenzymes CYP3A5 subpopulation encompasses the biggest part of CYP3A family, it can be found mainly in liver and intestine, as well as kidneys, lungs or polynuclear leukocytes [32, 33]. Its activity is present in 33% adult Caucasian population and in 60% Afro-Americans, it shares its substrates with CYP2A5 enzyme [12, 13, 31, 32]. Enzymes CYP3A4-A5 are found in large amount in gut wall and liver consequently their substrates are subject to an extensive metabolism in the alimentary tract due to the first pass effect (statins, calcium channel antagonists) which results in their poor bioavailability. Recent studies have shown that it is CYP3A5 polymorphic alleles but not CYP3A4 that functionally determine hepatic and intestinal metabolism of the drugs [32, 33]. Large amount of CYP3A5 enzyme is found only in subjects with at least one allele CYP3A5*1. In persons with two mutant CYP3A5*3 or CYP3A5*6 alleles the expression of the gene is absent. In Caucasian population in approximately 33% individuals increased CYP3A5 activity is observed which means they carry active CYP3A5*1 alleles. In such patients larger doses of drugs metabolised by CYP3A4-A5 may be required to obtain therapeutic effect. Moreover, they also appear to be at a greater risk of oxidation metabolites toxic effect. Variation in the activity of CYP3A isoforms due to their polymorphism is particularly important in

w podobnym lub mniejszym stopniu niż S-metoprolol. Ponieważ za działanie β -adrenolityczne odpowiada głównie enancjomer S, zatem w przypadku stężenia metoprololu całkowitego (S + D) należałoby się spodziewać większego efektu u EM niż u PM.

Bezpieczeństwo i skuteczność leków przeciwnarciowych, których metabolizm jest związany z CYP2D6, zależy od wielu czynników [23, 29]. Mogą one powodować bardzo duże różnice osobnicze w stężeniach tych leków we krwi mimo stosowania zbliżonych dawek. Stężenia poniżej zakresu terapeutycznego są przyczyną braku działania leczniczego, natomiast zbyt wysokie stężenia stwarzają niebezpieczeństwo wystąpienia objawów niepożądanych, zwłaszcza działania proarytmicznego. Dużym ryzykiem charakteryzuje się współistnienie fenotypu PM z niewydolnością układu krążenia, upośledzającą wtórnie wydolność wątroby i nerek odpowiedzialnych za eliminację leków.

Obserwowano działanie proarytmiczne flekainidu u osób z fenotypem PM i niewydolnością nerek (lek ten jest eliminowany z organizmu na drodze metabolizmu wątrobowego w 60%, a w 40% wydalą się w postaci niezmięnionej przez nerki).

Brak efektów terapeutycznych u PM obserwuje się również w przypadku stosowania enkainidu. Lek ten jest metabolizowany głównie do O-des-metyloenkainidu (ODE) z udziałem CYP2D6. Działanie przeciwnarciowe tego metabolitu jest 10-krotnie większe od działania leku macierzystego. U PM w celu uzyskania efektów terapeutycznych należy stosować większe dawki enkainidu w porównaniu z podawanymi u EM, u których za działanie przeciwnarciowe odpowiadają głównie aktywne metabolity.

Kolejnym przykładem genetycznie uwarunkowanego upośledzenia metabolizmu leku jest propafenon. U PM obserwowano nasilenie działań niepożądanych ze strony ośrodkowego układu nerwowego.

U osób ultraszybko metabolizujących z udziałem CYP2D6 nie można uzyskać stężeń terapeutycznych po podaniu standardowych dawek leków [25, 26].

Interakcje substratów CYP2D6 z innymi lekami

Dotychczas nie wykryto związków, które wykazywałyby silny wpływ indukujący na aktywność CYP2D6. Natomiast znanych jest kilka leków hamujących jego aktywność, m.in. chinidyna, cymetydyna, propafenon, fluoksetyna, amiodaron. Chinidyna jest selektywnym i bardzo silnym inhibitorem CYP2D6. Nawet niewielkie dawki tego związku dołączone do leku podlegającego polimorficznej oksydacji z udziałem CYP2D6 sprawiają, że osoba z fenotypem EM zachowuje się jak PM. Ma to istotne znaczenie w leczeniu skojarzonym chorób układu sercowo-naczyniowego [30, 31].

case of drugs with narrow therapeutic range used in immunotherapy after organ transplantation (cyclosporine A, tacrolimus). Drugs oxidated by CYP3A isoenzymes also include medications recently withdrawn from the market such as cerivastatin or cisapride (in some countries). So far it has not been established whether their excessive and sometimes fatal adverse reactions such as myopathy or even rhabdomyolysis occurring at high cerivastatin levels or potentially fatal arrhythmia (torsade de pointes, ventricular tachycardia or ventricular fibrillation) due to QT segment elongation observed with increased cisapride concentration were associated with drug-metabolising enzymes polymorphism or perhaps could be attributed to interactions or polymorphism of proteins crucial to the drug action (cisapride).

Interactions of CYP3A4-A5 substrates

Pharmacokinetic interactions resulting in CYP3A4-A5 isoenzymes inhibition influence the safety of the therapy. Bioavailability of statins or calcium channel antagonists following their oral administration substantially increases when inhibitors of the enzymes are coadministered. CYP3A4-A5 inhibitors include macrolids (erythromycin, klarithromycin, troleandomycin but not azithromycin), amiodarone, cimetidine, fluoxetine, fluvoxamine or azol antimycotic drugs (ketocoazole, itraconazole, myconazole, fluconazole) [18, 30].

Flavonoids (naringinine and naringine) and furanocoumarins (bergamottine) which are present in grapefruit juice are also potent inhibitors of CYP3A4-A5 [34–37]. Grapefruit juice has been shown to inhibit intestinal metabolism of felodipine, cyclosporin, lovastatin, simvastatin and atorvastatin increasing both their therapeutic and toxic effects [36]. In contrast pravastatin and fluvastatin do not interact with the drugs and grapefruit juice [18]. Activity of losartan partially metabolised by CYP3A4-A5 isoenzymes is reduced due to their interactions and subsequent inhibition by grapefruit juice which causes reduction of losartan conversion to its active metabolite E3174 [37]. The effect of enzymatic inhibition is sometimes used in order to increase bioavailability of drugs and to reduce costs of pharmacological treatment. Drug adjustment according to its serum concentration should be performed especially in case of medications with narrow therapeutic range or associated with deleterious adverse reactions. CYP3A4-A5 activity has been established to decrease following barbiturates, dexametasone, rifampicin or St. John's wort administration [30, 38, 39]. In patients regularly using St. John's wort reduced therapeutic effect of cyclosporin has been observed resulting in transplant rejection [40]. Hyperforine, the active agent of St. John's wort

Polimorfizm CYP3A4-A5

Izoenzymy z rodziny CYP3A stanowią największą ilościowo grupę spośród wszystkich enzymów cytochromu P450 (30%). Biorą one udział w procesie utleniania ponad 100 leków (50%) wykorzystywanych w codziennej praktyce klinicznej. Spośród leków stosowanych w chorobach sercowo-naczyniowych substratami dla CYP3A4-A5 są: blokery kanałów wapniowych, takie jak: nifedypina i około 20 innych pochodnych dihydropirydyny (np. niludypina, nimodypina, nisoldypina, nikardypina, felodypina), a ponadto amiodaron, diltiazem, werapamil, oraz statyny, takie jak: atorwastatyna, lowastatyna, simwastatyna (fluwastatyna — w niewielkim stopniu, gdyż główna droga oksydacji jest katalizowana przez CYP2C9; natomiast prawastatyna jest najbardziej hydrofilną statyną, która nie podlega procesowi biotransformacji). Do tej grupy należą również leki przeciwołytmiczne, takie jak lidokaina i chinidyna [12, 18, 30, 31]. Na aktywność CYP3A wpływają 3 izoenzymy z tej rodziny, a mianowicie CYP3A4, CYP3A5 i CYP3A7 [13, 32]. Mimo że geny te sąsiadują ze sobą na chromosomie 7, ich ekspresja jest niezależna [32]. Funkcjonalny gen CYP3A4 występuje u większości dorosłych. Jego obecność wykazano w wątrobie, jelicie i w nerkach. Izoenzym CYP3A7 występuje głównie w wieku płodowym, a jego aktywność zanika po urodzeniu. Tylko u niewielkiej liczby dorosłych osobników stwierdza się obecność mRNA CYP3A7 [32, 33]. Izoenzym CYP3A5 stanowi największą ilościowo część rodziny CYP3A. Występuje on głównie w wątrobie i w jelicie, a poza tym w nerkach, płucach oraz wielojądrczystych leukocytach [32, 33]. Jego aktywność wykazano u ok. 33% dorosłych osobników rasy białej i u 60% Amerykanów pochodzenia afrykańskiego. Substraty dla CYP3A4 są także substratami dla CYP3A5 [12, 13, 31, 32]. Enzymy CYP3A4-A5 występują w dużych ilościach w ścianie jelita oraz w wątrobie, dlatego też leki podane doustnie, które są substratami dla tych enzymów, przed wchłonięciem podlegają intensywnemu metabolizmowi w przewodzie pokarmowym w tzw. efekcie I przejścia (statyny, blokery kanałów wapniowych). Skutkiem tego jest ich mała dostępność biologiczna. Ostatnie badania wykazały, że polimorficzne allele genu CYP3A5, a nie CYP3A4, mają istotne znaczenie funkcjonalne w procesie metabolizowania tych leków zarówno w jelicie, jak i w wątrobie [32, 33]. Tylko osoby z przynajmniej 1 allelem CYP3A5*1 posiadają dużą ilość tego enzymu. Brak ekspresji tego genu stwierdzono u osób posiadających 2 zmutowane allele CYP3A5*3 lub CYP3A5*6. Około 33% osobników populacji kaukaskiej wykazuje zwiększoną aktywność metaboliczną CYP3A5, czyli jest nosicielami aktywnych alleli CYP3A5*1. Aby uzyskać efekt

extract turned out to be a potent inducer of CYP3A4-A5 isoforms that might substantially reduce therapeutic effect of drugs coadministered with St. John's wort [41].

Polymorphism of drug transporters

Recent studies have shown that efficacy and safety of pharmacological treatment may be associated with drug transporters polymorphism. One of the best known proteins related to transmembrane efflux of drugs is P-glycoprotein (P-gp), a macromolecular membrane protein belonging to ATP-dependent drug transporters family also called ABC (ATP-Binding Cassette) [42, 43]. P-glycoprotein is an ATP-dependent pump function of which is associated with reduction of intracellular drug concentration. It is found in numerous tissues such as alimentary tract, renal tubules, biliary canaliculi, placenta, cerebral capillaries endothelium, haemopoietic system cells, natural killers cells, monocytes and in large amount in neoplastic cells [43]. It was originally thought that multidrug resistance gene (MDR1) and its product P-glycoprotein were factors modulating neoplastic cells response to chemotherapy. It was subsequently established that neoplastic cells drug resistance related to P-glycoprotein expression is achieved by reduction of intracellular drug concentration. Later studies showed that P-glycoprotein also played an important role in absorption, distribution and elimination of drugs regulating their transmembrane efflux. P-glycoprotein substrates include digoxin, talinolol, celiprolol, antracyclins, warfarin, calcium channel antagonists, cyclosporin A, tacrolimus, glyco-corticosteroids and others. Some of the drugs are also CYP3A4-A5 substrates [41, 43, 44] which is particularly important in combination therapy (pharmacokinetic interactions).

P-glycoprotein expression is increased by rifampicin, grapefruit juice, St. John's wort, whereas antimycotic drugs (ketoconazole, itraconazole), tamoxifen, quinidine, amiodarone, propafenone, verapamil or nifedipine inhibit it [41, 43, 44]. Long-term treatment of St. John's wort, as antidepressive medication resulted in 30% reduction of coadministered digoxin concentration [41]. P-glycoprotein tissue expression affects bioavailability of orally administered drugs (P-gp substrates) as well as their distribution and elimination. As a result of studies on transmembrane drug transportation processes mechanisms underlying some interactions such as that of digoxin and quinidine or verapamil has been elucidated. The latter two drugs show strong affinity to P-gp thus inhibiting digoxin excretion in bile and urine, increasing its serum concentration as well as the risk of life-threatening adverse reactions [43].

terapeutyczny, pacjenci ci mogą wymagać podawania większych dawek leków metabolizowanych przez CYP3A4-A5. Osoby te są też częściej narażone na działanie toksycznych metabolitów, które mogą powstać w reakcjach utleniania. Polimorfizm aktywności izoenzymów z rodziny CYP3A ma szczególne znaczenie dla leków o wąskim współczynniku terapeutycznym stosowanych w immunoterapii, zwłaszcza po przeszczepach narządów (cyklosporyna A, takrolimus).

Do leków utlenianych przez izoenzymy z rodziny CYP3A należą także ostatnio wycofane z rynku farmaceutycznego: ceriwastatyna i cizapryd. Nie ustalono, czy nasilone niebezpieczne działania niepożądane obu leków często kończące się zgonem pacjenta, takie jak: miopatia czy w krańcowym przypadku rabdomioliza, związane ze zbyt wysokim stężeniem ceriwastatyny we krwi, oraz potencjalnie śmiertelne zaburzenia rytmu serca typu *torsade de pointes* (TdP), częstoskurcz komorowy czy migotanie komór z powodu wydłużenia odstępu QT, pojawiające się przy zwiększonych stężeniach cizaprydu, wiązały się z polimorfizmem enzymów metabolizujących te leki, czy np. były one wynikiem interakcji lub polimorfizmu białek odgrywających rolę w działaniu tego leku (cizapryd).

Interakcje substratów CYP3A4-A5 z innymi lekami

Interakcje farmakokinetyczne związane z hamowaniem aktywności izoenzymów CYP3A4-A5 mają istotny wpływ na bezpieczeństwo farmakoterapii. Dostępność biologiczna doustnie podanych statyn czy blokerów kanałów wapniowych, podobnie jak innych substratów, znacznie wzrasta, jeżeli są one podane z inhibitorami tych enzymów. Do leków hamujących aktywność CYP3A4-A5 należą: antybiotyki makrolidowe (erytromycyna, klarytromycyna, troleandomycyna, natomiast nie azytromycyna), a ponadto amiodaron, cymetydyna, fluoksetyna, fluoksamina, a także azolowe leki przeciwgrzybicze (ketokonazol, itraconazol, mikonazol, flu-konazol) [18, 30].

Silnym inhibitorem CYP3A4-A5 są także flawonoidy (naringinina i naringina) oraz furanokumaryny (bergamotyna) zawarte w soku grejpfrutowym [34–37]. Wykazano, że sok grejpfrutowy w znacznym stopniu hamuje metabolizm w jelicie cienkim felodypiny, cyklosporyny, lowastatyny, simwastatyny, atorwastatyny, nasilając zarówno ich działanie farmakologiczne, jak i niepożądane [36]. Prawastatyna i fluwastatyna nie wchodzi w interakcje z wymienionymi lekami i z sokiem grejpfrutowym [18]. Losartan, który jest częściowo metabolizowany również przez CYP3A4-A5, wykazywał słabe działanie w wyniku interakcji z sokiem grejpfrutowym. Zahamo-

MDR1 gene encoding P-glycoprotein has recently been a subject of thorough research leading as yet to discovery of as much as 11 alleles [45]. The allele containing point mutation in locus 3435 (C3435T) has been established to be the most relevant in clinical practice as the mutation substantially reduces P-gp expression in gut resulting in enhanced intestinal absorption of drugs e.g. digoxin. In homozygotic subjects with 3435T/T genotype treated with digoxin the drug serum concentration was 4 times higher and toxic effects were observed [43, 45]. In European population the prevalence of 3435C/T genotype is 53.9% while in 28.6% genotype 3435T/T is found. In subjects with 3435T/T genotype increased pharmacodynamic effect of orally administered drugs has been observed due to their enhanced bioavailability, more extensive distribution through blood-brain barrier as well as their limited elimination with bile and/or urine [43–45]. The possibility of adverse events should always be considered as P-gp polymorphism can substantially affect treatment safety and efficacy particularly in drugs with narrow therapeutic range.

Pharmacodynamic polymorphism

The pharmacological effect of a drug is dependent on its interaction with membrane receptor (in about 50% of drugs) or enzymes (about 30%) in target tissue. Approximately 5% of drugs affect function of ionic channels [46]. Many genes coding the proteins show polymorphism that in many cases can be attributed to altered drug response. One of the most extensively studied receptors showing gene polymorphism is β_2 -adrenergic receptor. Point mutation of its gene resulting in amino acid substitution in locus 16 (arginine for glycine) has important clinical consequences. In subjects with genotypes Arg16/Gly16 or Gly16/Gly16 bronchodilating effect of albuterol (β_2 receptor agonist) is substantially attenuated [47]. In Caucasian population the incidence of at least single mutant Gly16 allele is about 37% [6, 12, 47]. The genotype may also decrease effectiveness of antiarrhythmic drugs action of which is dependent on β -receptors.

Gene polymorphism of angiotensin converting enzyme (ACE) is one of special importance in cardiovascular diseases as it affects pharmacological effect of ACE inhibitors. So far numerous studies concerning the topic have been published while the results of many of them remain controversial [48–52]. Gene encoding ACE is situated on the long arm of 17 chromosome in 23 region (locus 17q23). The most extensively studied is insertion/deletion polymorphism (I/D) related to mutation of intron 16 (deletion of 287 base pairs). Therefore three genotypes can be distinguished: homozygotic D/D or I/I and heterozygotic I/D. The same polymorphism has been

wanie aktywności tych izoenzymów w jelicie istotnie zmniejszyło konwersję losartanu do jego aktywnego metabolitu E3174 [37]. Zjawisko inhibicji enzymatycznej wykorzystuje się czasami w celu zwiększenia dostępności biologicznej leków i zmniejszenia kosztów farmakoterapii. Należy wówczas stosować terapię, kontrolując stężenie leku we krwi. Ma to istotne znaczenie dla leków o wąskim współczynniku terapeutycznym lub wywołujących niebezpieczne działania niepożądane.

Aktywność CYP3A4-A5 zwiększa się po podaniu barbituranów, deksametazonu i rifampicyny oraz dziurawca [30, 38, 39]. Obserwowano mniejszą skuteczność terapeutyczną cyklosporyny, prowadzącą do odrzutu przeszczepionego narządu u osób przyjmujących przewlekle dziurawiec [40]. Substancja aktywna w wyciągu z dziurawca — hiperforyna — okazała się silnym induktorem izoenzymów z grupy CYP3A4-A5, może to w istotny sposób zmniejszać skuteczność terapeutyczną leków stosowanych łącznie z dziurawcem [41].

Polimorfizm transporterów dla leków

Badania z ostatnich kilku lat wykazały, że skuteczność i bezpieczeństwo farmakoterapii może się wiązać z polimorfizmem transporterów dla niektórych leków. Jednym z najlepiej poznanych białek przenoszących leki przez błony komórkowe jest glikoproteina-P (P-gp). Jest to wielkocząsteczkowe białko błonowe, które należy do rodziny białek transportujących leki zależnych od ATP, tzw. ABC (*ATP-Binding Cassette*) [42, 43]. Glikoproteina-P jest pompą zależną od ATP, prowadzącą do zmniejszenia wewnątrzkomórkowego stężenia leków. Występuje ona w wielu tkankach, m.in. w przewodzie pokarmowym, w kanalikach nerkowych i żółciowych, w łożysku, w komórkach śródbłonna naczyń kapilarnych mózgu. Obecność P-gp stwierdzono także w komórkach układu hemopoetycznego, komórkach NK (*natural killers*), monocytach i w dużych ilościach w komórkach nowotworowych [43]. Początkowo uważano, że gen oporności wielolekowej (MDR1, *multidrug resistance gene*) i P-gp kodowana przez ten gen są czynnikami modyfikującymi odpowiedź komórek nowotworowych na chemioterapię. Stwierdzono, że ekspresja P-gp warunkuje oporność komórek nowotworowych na leki przez zmniejszenie ich wewnątrzkomórkowego stężenia. Później wykazano, że P-gp odgrywa również ważną rolę w procesie wchłaniania, dystrybucji i eliminacji leków poprzez regulację transportu przez błonowego wielu substancji. Substratami dla P-gp są m.in. digoksyna, talinolol, celiprolol, antybiotyki antracyklinowe, warfaryna, blokery kanałów wapniowych, cyklosporyna A, takrolimus, glikokortykosteroidy. Niektóre spośród tych leków są także substratami dla CYP3A4-A5 [41, 43, 44].

established in the studies on expression of ACE related to human lymphocyte T membrane or to epithelial cells [53]. It is thought that ACE activity is regulated by intron 16 therefore its deletion (allele D) results in synthesis of more active enzyme while its insertion (insertion of additional 287 base pairs in intron 16 — allele I) leads to low activity enzyme formation. Insertion of 287 base pairs (allele I) may be responsible for substantial differences in ACE activity and variation in its pharmacological effect following ACE inhibitors administration [54]. Several studies have shown that I/D polymorphism can be attributed to altered response to ACE inhibitors in patients with renal disease, hypertension or acute heart failure [49–52]. Some studies suggest that it may also be a factor in the pathogenesis of several diseases such as hypertension, coronary heart disease, myocardial infarction, atherosclerosis, hypertrophic cardiomyopathy, sarcoidosis, cerebrovascular disease or diabetic nephropathy.

Polymorphism B1/B2 of intron 1 encoding cholesteryl ester transfer protein (CETP) is another example of clinically important gene polymorphism that may affect the efficacy of statin treatment (HMG-Co reductase inhibitors). Among 807 pravastatin-treated patients the effect of coronary atherosclerosis inhibition was observed only in B1 genotype carriers [55]. High concentration of CETP was associated with low HDL cholesterol level; the correlation is likely to stimulate atherosclerosis progression.

In the discussion of pharmacodynamic polymorphisms hereditary long QT syndrome (LQTS) should also be considered. It is related with life-threatening arrhythmia (torsade de pointes, ventricular fibrillation) which can be the cause of sudden death even in young persons without cardiovascular diseases [56]. The prevalence of LQTS in Caucasian population is estimated at 1–2% [6, 57, 58]. Hereditary LQTS may be linked to mutations of 5 genes encoding structural subunits of cardiac ionic channels which play an important role in transmembrane flux of sodium and kalium ions. Long QT syndrome can also be induced by some drugs or metabolic disturbances (especially some antiarrhythmic drugs affecting ionic channels or others like cisapride, terfenadine, astemisol, thioridazine). Recently four other mutations of kalium channels have been identified among which one is associated with long QT and cardiac arrhythmia induced by some antibiotics (e.g. clarithromycin, erythromycin, sulfametoxazole-trimetoprim [Biseptol, Bactrim]) [58].

Pharmacotherapy of the future

Research studies of the human genome resulted in the identification of the complete DNA sequence in 21st cen-

Ma to istotne znaczenie podczas terapii skojarzonej (interakcje farmakokinetyczne).

Ekspresję P-gp zwiększającą ryfampicyna, sok grejfrutowy, dziurawiec, podczas gdy leki przeciwgrzybicze (ketokonazol, itraconazol) oraz tamoksyfen, chinidyna, amiodaron, propafenon, werapamil, a także nifedypina hamują jej ekspresję [41, 43, 44]. Dziurawiec stosowany przewlekłe jako lek przeciwdepresyjny u pacjentów leczonych digoksyną zmniejszał jej stężenie o 30% [41]. Dostępność biologiczna wielu leków podanych doustnie (substraty dla P-gp), ich dystrybucja oraz eliminacja zależą od ekspresji tej glikoproteiny w tkankach. Dzięki poznaniu mechanizmów transportujących leki przez błony komórkowe w procesach farmakokinetycznych (wchłanianie, dystrybucja, wydalanie) stało się możliwe wyjaśnienie podłoża niektórych interakcji, np. digoksyny z chinidyną lub z werapamilem. Leki te, wykazując silne powinowactwo do P-gp, hamują wydalanie digoksyny do żółci i moczu, istotnie zwiększając jej stężenie we krwi i związane z tym niebezpieczne dla życia pacjenta działania niepożądane digoksyny [43].

Gen MDRI kodujący P-gp jest ostatnio intensywnie badany. Dotychczas wykryto 11 różnych alleli [45]. Z klinicznego punktu widzenia najbardziej istotny okazał się allel zawierający mutację punktową w pozycji 3435 (C3435T). Mutacja ta istotnie zmniejsza ekspresję P-gp w jelicie, powodując zwiększone wchłanianie leków z przewodu pokarmowego, np. digoksyny. U osobników homozygotycznych z genotypem 3435T/T leczonych digoksyną obserwowano 4-krotnie wyższe stężenia tego leku we krwi i objawy toksyczne digoksyny [43, 45]. W populacji europejskiej genotyp heterozygotyczny 3435C/T występuje u 53,9%, a 28,6% osobników jest homozygotami 3435T/T. Konsekwencją kliniczną genotypu 3435T/T jest wzrost dostępności biologicznej leków podanych drogą przewodu pokarmowego, zwiększona dystrybucja niektórych leków przez barierę krew-mózg, ograniczona eliminacja leków z żółcią i/lub z moczem, a w efekcie nasilone działanie farmakodynamiczne [43–45]. Należy się jednak liczyć z możliwością wystąpienia działań niepożądanych. Polimorfizm P-gp może mieć istotne znaczenie dla bezpieczeństwa i skuteczności terapii, zwłaszcza przy stosowaniu leków o wąskim wężym terapeutycznym.

Polimorfizm farmakodynamiczny

Efekt farmakologiczny leku jest uwarunkowany jego interakcją w miejscu działania z receptorem błonowym (ok. 50% leków) lub z enzymami (ok. 30%). Około 5% leków działa na odpowiednie kanały jonowe [46]. Wiele genów kodujących powyższe białka wykazuje genetyczny polimorfizm, który może odgrywać istotną

tury. The studies enabled the discovery of location, sequence and mutations of numerous genes playing an important role in the pathogenesis of some diseases or individual drug susceptibility. Extensive research has been carried out in order to apply their results to clinical practice.

As much as 30,000 genes consisting of 3,12 billion single nucleotide bases has been identified in human genome [12]. The incidence of single nucleotide mutations (SNP) between two individuals is estimated at 1 of every 1250 base pairs which equals 2,5 million SNPs. The number of new SNPs has been increasing. In March 2000 in SNP data base (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) approximately 100,000 SNPs were registered but in April 2001 the number reached 2,593,067. It is obvious however that only some of the polymorphisms are of clinical relevance [59].

In the present millenium new science pharmacogenomics has been founded. It uses systematic analysis of human genome variation to establish which drugs could be effective and which might prove toxic in an individual patient. Using new methods of collection and analysis of information concerning gene sequence and drug effects scientists have been developing a large catalogue of SNPs in order to trace individual genomes to specific drug reactions. It is predicted that a day will come in which physicians using predictive genotyping will prescribe medications tailored to the genome of an individual patient. Pharmaceutical industry hopes that besides improving diagnostics pharmacogenomics will also allow for the development of new drugs. According to Tufts Center for Study of Drug Development as much as 80% of new substances are eliminated in early phases of clinical studies as they prove ineffective or toxic [60]. In order to improve efficacy and safety of drug treatment many companies have been producing SNP-testers (chips) which can be used to identify variant forms of a gene encoding specific enzyme or enzymes. Some of them are already available on the market. A company from California offers a SNP-tester which can be used in identification of 18 variant forms of a gene encoding cytochrome P450. The same company is expected to launch soon HuSNP, a DNA tester which could enable identification of genetic variations of 1500 different marker sequences and link them to specific diseases [60]. Many scientists assume that in 2010 after completion of human genome mapping individualised drug treatment based on patient's genetic predisposition will be introduced [61].

References

1. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN (1998) Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA*, 279: 1200–1205.

rolę w zmienionej odpowiedzi na podany lek. Jednym z najlepiej poznanych receptorów, które wykazują genetyczny polimorfizm, jest receptor β_2 -adrenergiczny. Istotna z klinicznego punktu widzenia wydaje się mutacja punktowa w genie kodującym ten receptor, która powoduje zamianę aminokwasu w pozycji 16: argininy na glicynę. U nosicieli tej mutacji (genotyp Arg16/Gly16 oraz Gly16/Gly16) efekt bronchodylatoryjny po zastosowaniu albuterolu (agonisty receptora β_2) był istotnie zmniejszony [47]. W populacji kaukaskiej ok. 37% osób jest nosicielami przynajmniej 1 zmutowanego allele Gly16 [6, 12, 47]. Genotyp ten może także zmniejszać skuteczność leków przeciwartymicznych działających na te receptory.

W chorobach sercowo-naczyniowych istotny wydaje się polimorfizm genu kodującego enzym konwertazę angiotensyny I (ACE, *angiotensin-converting enzyme*), który wpływa na efekt farmakodynamiczny inhibitorów ACE. Ukazało się wiele prac na ten temat, a wyniki tych badań są często kontrowersyjne [48–52]. Gen kodujący ACE1 leży na długim ramieniu chromosomu 17, w regionie 23 (*locus* 17q23). W genie tym potwierdzono istnienie 6 polimorfizmów. Najlepiej poznany i zbadany jest polimorfizm typu insercja/delecja (I/D), spowodowany mutacją w intronie 16 (wypadnięcie 287 par zasad — delecja). Polimorfizm ACE warunkuje występowanie 3 genotypów: homozygotyczny D/D, homozygotyczny I/I oraz heterozygotyczny I/D. Taki sam polimorfizm stwierdzono, badając ekspresję ACE związanego z błoną ludzkich limfocytów T oraz ACE związanego z komórkami nabłonka [53]. Uważa się, że intron 16 wpływa regulująco na aktywność ACE, stąd delecja (obecność allele D) prowadzi do powstania formy enzymu o wyższej aktywności, podczas gdy insercja (wstawienie dodatkowych 287 par zasad w intronie 16 — obecność allele I) powoduje syntezę enzymu o mniejszej aktywności. Insercja 287 par zasad (allel I) może być odpowiedzialna za znaczne różnice aktywności enzymu ACE i efekt farmakologiczny po podaniu leków z grupy inhibitorów enzymu ACE [54]. Wiele badań wykazało, że polimorfizm I/D wiąże się ze zmienioną odpowiedzią po podaniu inhibitorów ACE pacjentom z chorobami nerek i nadciśnieniem oraz w ostrej niewydolności serca [49–52]. Może on również odgrywać rolę w patogenezie niektórych chorób, takich jak: nadciśnienie tętnicze, choroba wieńcowa, zawał serca, miażdżyca, kardiomiopatia przerostowa, sarkoidoza, choroba naczyń mózgowych czy też nefropatia cukrzycowa, ale wymaga to jeszcze potwierdzenia.

Innym przykładem jest polimorfizm B1/B2 w intronie 1 w genie kodującym białko transportujące estry

2. Classen DC, Pestotnik SL, Evans RS, Lloyd JF, Burke JP (1997) Adverse drug events in hospitalized patients. Excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. *JAMA*, 277: 301–306.
3. Green CF, Mottram DR, Rowe PH, Pirmohamed M (2000) Adverse drug reactions as a cause of admission to an acute medical assessment unit: a pilot study. *J Clin Pharm Ther*, 25: 355–361.
4. Pirmohamed M, Park K (2001) Genetic susceptibility to adverse drug reactions. *Trends in Pharmacol Sci*, 6: 298–305.
5. Nebert DW (1999) Pharmacogenetics and pharmacogenomics: why is the relevant to the clinical geneticist? *Clin Genet*, 56: 247–258.
6. Meyer UA (2000) Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet*, 356: 1667–1671.
7. Meyer UA, Zanger UM (1997) Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 37: 269–296.
8. Roses AD (2000) Pharmacogenetics and future drug development and delivery. *Lancet*, 355: 1358–1361.
9. Bertilsson L (1995) Geographical/Interracial differences in polymorphic drug oxidation. *Clin Pharmacokinet*, 29: 192–209.
10. Meyer UA (1991) Genotype or phenotype: the definition of a pharmacogenetic polymorphism. *Pharmacogenetics*, 1: 66–67.
11. Meyer UA (2000) Drugs in special patient groups: clinical importance of genomics in drug effects. In: Carruthers GS, Hoffmann BB, Melmon KL, Nierenberg DW, eds. *New York: McGrawHill*, 1179–1205.
12. Ingelman-Sundberg M (2001) Pharmacogenetics: an opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. *J Int Med*, 250: 186–200.
13. Ingelman-Sundberg M, Oscarson M, McLellan RA (1999) Polymorphic human cytochrome P450 enzymes; an opportunity for individualized drug treatment. *Trends Pharmacol Sci*, 20: 342–349.
14. Rettie AE, Korzekwa KR, Kunze KL et al. (1992) Hydroxylation of warfarin by human cDNA-expressed cytochrome-P-450 a role for P-45-2C9 in the etiology of (S)-warfarin drug-interaction. *Chem Res Toxicol*, 5: 54–59.
15. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK (1999) Association of polymorphisms in cytochrome P40 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet*, 353: 717–719.
16. Taube J, Halsall D, Baglin T (2000) Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. *Blood*, 96: 1816–1819.
17. Miners JO, Birkett DJ (1998) Cytochrome P4502C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br J Clin Pharmacol*, 45: 525–538.
18. Gawrońska-Szklarz B (2000) Inhibitory reduktazy (HMG-CoA) — biochemiczne mechanizmy działania. *Przewodnik Lekarza*, 7: 42–49.
19. Gonzalez FJ, Idle JR (1994) Pharmacogenetic phenotyping and genotyping. Present status and future potential. *Clin Pharmacokinet*, 26: 59–70.
20. West WL, Knight EM, Pradhan S, Hinds TS (1997) Interpatient variability: genetic predisposition and other genetic factors. *J Clin Pharmacol*, 33: 635–638.

cholesterolu (CETP, *cholesteryl ester transfer protein*). Może on odgrywać istotną rolę w skuteczności leczenia statynami (inhibitory reduktazy HMG-Co). Wykazano, że spośród 807 osób leczonych prawastatyną korzystny efekt zahamowania postępu miażdżycy naczyń wieńcowych uzyskano tylko u tych pacjentów, którzy byli nosicielami genotypu BI [55]. Wysokie stężenie CETP we krwi korelowało z niskim stężeniem cholesterolu frakcji HDL, co prawdopodobnie stymuluje rozwój miażdżycy.

Omawiając polimorfizmy farmakodynamiczne, należy zwrócić także uwagę na tzw. dziedziczny syndrom długiego QT (LQTS, *long QT syndrom*), który powoduje wystąpienie niebezpiecznych dla życia zaburzeń rytmu serca, pod postacią częstoskurczu komorowego typu TdP i migotania komór, mogących być powodem nagłej śmierci nawet u młodych osób bez chorób sercowo-naczyniowych [56]. Częstość występowania syndromu LQTS ocenia się na 1–2% w populacji kaukaskiej [6, 57, 58]. Przyczyną dziedzicznego zespołu LQTS mogą być mutacje wykryte w 5 genach kodujących strukturalne podjednostki w sercowych kanałach jonowych, które odgrywają istotną rolę w transporcie błonowym jonów sodu i potasu. Syndrom długiego QT może być także spowodowany przez niektóre leki przeciwaritmiczne działające na kanały jonowe oraz inne leki, np. wycofany cizapryd, trfenadyna, astemizol, tiorydazyna). Ostatnio wykryto 4 inne mutacje w kanałach potasowych, z których I (Ala I 6Wal) predysponuje do wystąpienia zaburzeń rytmu serca typu LQTS po niektórych antybiotykach, m.in.: klarytromycyny, erytromycyny, sulfametoksazolu-trimetoprimu (Biseptol, Bactrim) [58, 59].

Przyszłość farmakoterapii

Badania nad poznaniem genomu człowieka zaowocowały ogłoszeniem na początku XXI wieku sekwencji ludzkiego DNA. Dzięki tym odkryciom stało się możliwe poznanie lokalizacji, sekwencji oraz mutacji wielu genów, które odgrywają istotną rolę w patogenezie niektórych chorób oraz są przyczyną wrażliwości osobniczej na podany lek. Rozpoczęły się intensywne badania nad praktycznym wykorzystaniem tej wiedzy.

W genomie ludzkim wykryto dotychczas ok. 30 000 różnych genów składających się z ok. 3,12 biliona pojedynczych zasad nukleotydowych [12]. Częstość występowania SNP pomiędzy dwoma osobnikami ocenia się na 1 co 1250 par zasad, co daje w sumie całkowitą liczbę SNP ok. 2,5 miliona. Liczba nowych SNP ciągle rośnie. W marcu 2000 roku w dostępnej bazie danych (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) zarejestrowano ok. 100 000 SNP, ale już w kwietniu 2001 liczba ta wzrosła

21. Kroemer HK, Eichelbaum M (1995) Molecular basis and clinical consequences of genetic cytochrome P-4502D6 polymorphism. *Life Sci*, 56: 2285–2298.
22. Priori SG, Barhanin J, Hauer RN et al. (1999) Genetic and molecular basis of cardiac arrhythmias: impact on clinical management parts I and II. *Circulation*, 99: 518–528.
23. Evans WE, Relling MV (1999) Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science*, 286: 487–491.
24. Koytchev R, Alken RG, Vlahov V et al. (1998) Influence of cytochrome P4502D6*4 allele on the pharmacokinetics of controlled-release metoprolol. *Eur J Clin Pharmacol*, 54: 469–474.
25. Dalen P, Dahl ML, Andersson K, Bertilsson L (1999) Inhibition of debrisoquine hydroxylation with quidine in subjects with three or more functional CYP2D6 genes. *J Clin Pharmacol*, 49: 180–184.
26. Ingelman-Sundberg M (1999) Duplication, multiduplication, and amplification of genes encoding drug-metabolizing enzymes: evolutionary, toxicological, and clinical pharmacological aspects. *Drug Metab Rev*, 31: 449–459.
27. Brosen K (1990) Recent development in hepatic drug oxidation. Implications for Clinical Pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*, 18: 220–239.
28. Clark DWJ (1985) Genetically determined variability in acetylation and oxidation. Therapeutic implications. *Drugs*, 29: 342–375.
29. Eichelbaum M (1982) Defective oxidation of drugs. Pharmacokinetics implications. *Clin Pharmacokinet*, 7: 1–22.
30. Caracao Y (1998) Genetic determinants of drug responsiveness and drug interactions. *Ther Drug Monit*, 20: 517–524.
31. Rendic S, DiCarlo FJ (1997) Human cytochrome P450 enzymes: a status report summarizing their reactions, substrates, inducers, and inhibitors. *Drug Metab Rev*, 29: 413–580.
32. Kuehl P, Zhang J, Lin Y et al. (2001) Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet*, 27: 383–391.
33. Sata F, Sapone A, Elizondo G et al. (2000) CYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: Evidence for allelic variant with altered catalytic activity. *Clin Pharmacol Ther*, 67: 48–56.
34. Lown KS, Bailey DG, Fontana RJ et al. (1997) Grapefruit juice increases felodipine oral availability in humans by decreasing intestine CYP3A4 protein expression. *J Clin Invest*, 99: 2545–2253.
35. Edwards DJ, Bellevue FH, Woster PM (1996) Identification of 6',7'-dihydroxybergamottin, a cytochrome P-450 inhibitor, in grapefruit juice. *Drug Metab Dispos*, 24: 1287–1290.
36. Ameer B, Weintraub RA (1997) Drug interactions with grapefruit juice. *Clin Pharmacokinet*, 23: 103–121.
37. Zaidenstein R, Soback S, Gips M et al. (2001) Effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics of losartan and its active metabolite E3174 in healthy volunteers. *Ther Drug Monit*, 23: 369–373.
38. Markowitz JS, De Vane CL, Boulton DW et al. (2000) Effect of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) on cytochrome P-450 2D6 and 3A4 activity in healthy volunteers. *Pharmacol Lett*, 66: 133–139.
39. Durr D, Stieger B, Kullak-Ublick GA et al. (2000) St. John's Wort induces intestinal P-glycoprotein/MDR1 and intestinal and hepatic CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther*, 68: 598–604.
40. Ruschitzka F, Meier PJ, Turina M, Luscher TF, Noll G (2000) Acute heart transplant rejection due to Saint John's wort. *Lancet*, 355: 548–549.
41. Hennessy M, Kelleher D, Spiers JP et al. (2002) St John's Wort increases expression of P-glycoprotein: implications for drug interactions. *Br J Clin Pharmacol*, 53: 75–82.
42. Tanigawara Y (2000) Role of P-glycoprotein in drug disposition. *Ther Drug Monit*, 22: 137–140.

i wynosiła 2 593 067. Oczywiście, tylko niektóre z tych polimorfizmów mają istotne znaczenie kliniczne [59].

W obecnym tysiącleciu pojawiła się nowa dziedzina nauki — farmakogenomika, która stara się wykorzystać systematyczną analizę zmienności ludzkiego genomu do ustalenia, które leki będą skuteczne, a które mogą być toksyczne u określonych pacjentów. Naukowcy wykorzystując najnowsze techniki zbierania i porównywania znacznych ilości informacji dotyczących sekwencji genów oraz działania leków, tworzą obszerny katalog SNIp-ów w nadziei, że uda się im połączyć określone wzorce genetyczne z różnymi reakcjami na leki. Przewidują, że nadejdzie dzień, kiedy lekarze będą przepisywać leki dostosowane do indywidualnych cech genetycznych pacjenta. Firmy farmaceutyczne mają jednak nadzieje, że farmakogenomika, oprócz usprawnienia diagnostyki, ułatwi im również wprowadzenie na rynek większej liczby nowych leków. Według danych *Tufts Center for Study of Drug Development* w Tufts University obecnie aż 80% nowych preparatów eliminuje się we wczesnych fazach badań klinicznych, ponieważ są nieskuteczne, a nawet toksyczne [60]. W celu zwiększenia skuteczności i bezpieczeństwa farmakoterapii na podstawie już zdobytej wiedzy z farmakogenetyki wiele firm zajmuje się produkcją tzw. testerów SNIp-owych (chipów), które można wykorzystać do wykrywania odmiennych form jakiegoś genu kodującego dany enzym (enzymy). Niektóre z nich już są dostępne. Firma z Kalifornii oferuje obecnie tester SNIp-owy, który można stosować do wykrywania 18 odmiennych form genu kodującego cytochrom P450. Ta sama firma powinna wkrótce wprowadzić na rynek HuSNP, tester DNA, który pozwoli naukowcom i lekarzom scharakteryzować zmienność genetyczną 1500 różnych sekwencji znacznikowych i powiązać je z różnymi schorzeniami [60]. Wielu naukowców uważa, że w 2010 roku, kiedy zostaną zakończone badania nad sekwencją ludzkiego genomu, wprowadzona zostanie farmakoterapia indywidualizowana na podstawie predyspozycji genetycznych pacjenta [61].

43. Ayrton A, Morgan P (2001) Role of transport proteins in drug absorption, distribution and excretion. *Xenobiotica*, 31: 469–497.
44. Lum BL, Gosland MP (1995) MDR expression in normal tissues: pharmacological implications for clinical use of P-glycoprotein inhibitors. *Hematol Oncol Clin North Am*, 9: 319–336.
45. Cascorbi I, Gerloff T, Johne A et al. (2001) Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther*, 69: 169–174.
46. Drews J, Ryser S (1997) The role of innovation in drug development. *Nat Biotechnol*, 15: 1318–1319.
47. Liggett SB (2000) The pharmacogenetics of β_2 -adrenergic receptors: relevance to asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 105: 487–492.
48. Navis G, van der Kleij FG, de Zeeuw D, de Jong PE (1999) Angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism and renal disease. *J Mol Med*, 77: 781–791.
49. Yoshida H, Mitarai T, Kawamura T et al. (1995) Role of the deletion of polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in the progression and therapeutic responsiveness of IgA nephropathy. *J Clin Invest*, 96: 2162–2169.
50. van Essen GG, Rensma PL, de Zeeuw D et al. (1996) Association between angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and failure of renoprotective therapy. *Lancet*, 347: 94–94.
51. Benetos A, Cambien F, Gautier S et al. (1996) Influence of the angiotensin II type I receptor gene polymorphism on the effects of perindopril and nitrendipine on arterial stiffness in hypertensive individuals. *Hypertension*, 28: 1081–1084.
52. O'Toole L, Stewart M, Padfield P, Channer K (1998) Effect of the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene on response to angiotensin-converting enzyme inhibitors in patients with heart failure. *J Cardiac Pharmacol*, 32: 988–994.
53. Malik FS, Lavie CJ, Mehra MR, Milani RV, Re RN (1997) Renin-angiotensin system: genes to bedside. *Am Heart J*, 3: 514–527.
54. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F et al. (1990) An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest*, 86: 1343–1346.
55. Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH et al. (1998) The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. The Regression Growth Evaluation Statin Study Group. *N Eng J Med*, 338: 86–93.
56. Ackerman MJ, Clapham DE (1997) Ion channels — basic science and clinical disease. *N Engl J Med*, 336: 1575–1586.
57. Priori SG, Barhanin J, Hauer RN et al. (1999) Genetic and molecular basis of cardiac arrhythmias: impact on clinical management parts I and II. *Circulation*, 99: 518–528.
58. Sesti F, Abbott GW, Wei J et al. (2000) A common polymorphism associated with antibiotic-induced cardiac arrhythmia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 10613–10618.
59. Marth G, Yeh R, Minton M et al. (2001) Single-nucleotide polymorphisms in the public domain: how useful are they? *Nat Genet*, 27: 372–372.
60. Hopkin K (1999) Terapie krojone na miarę: lek dla ciebie (translated by A. Bidziński). *Świat Nauki*, 34: 34–37.
61. Liggett SB (2001) Pharmacogenetic applications of the Human Genome project. *Nat Med*, 3: 281–283.