

## Znaczenie polimorfizmów genowych w chemioterapii nowotworów

Joanna Huszno<sup>1</sup>, Elżbieta Nowara<sup>1</sup>, Rafał Suwiński<sup>2</sup>

*Intensywnie rozwijająca się w ostatnich latach dziedzina farmakologii – farmakogenetyka stawia sobie za cel indywidualizację leczenia, tj. wyselekcjonowanie w oparciu o badania genetyczne grup chorych, którzy uzyskają największe korzyści terapeutyczne z zastosowanego leczenia, z jednoczesną minimalizacją ryzyka wystąpienia działań niepożądanych. Farmakogenetyka bada zmienności wynikające z obecności polimorfizmów genowych, mutacji oraz różnej ekspresji genów. W poniższej pracy skoncentrowano się na zagadnieniu związanym z wpływem polimorfizmów genowych na funkcję białek uczestniczących w transporcie, w metabolizmie leków oraz w procesie naprawy uszkodzeń DNA. Przebieg powyższych procesów ma istotne znaczenie dla działania leków w organizmie i dotyczy zarówno efektu terapeutycznego, jak i wystąpienia reakcji niepożądanych. W pracy przedstawiono zagadnienia dotyczące farmakogenetyki leków powszechnie stosowanych w onkologii klinicznej. Przedstawiono mechanizmy transportu i metabolizmu leków, ze szczególnym uwzględnieniem roli polimorfizmów genów kodujących białka enzymatyczne I i II fazy oraz białka uczestniczące w transporcie.*

### The importance of genetic polymorphisms in cancer chemotherapy

*Pharmacogenetics is a rapidly developing area of pharmacology aimed at therapeutic individualization i.e. the identification of patients who are most likely to benefit from a given treatment with minimal side effects. Pharmacogenetics investigates individual variability which results from the presence of genetic polymorphisms, mutations and varied gene expression. In this study we concentrated on the influence of polymorphisms on the function of proteins which participate in drug transport and metabolism and on the mechanisms of DNA repair. These processes influence drug activity, the efficacy of therapy therapeutic and the possible side effects.*

*The paper presents the pharmacogenetics of drugs commonly used in oncology, including the mechanisms of drug transport and metabolism with special interest placed on the polymorphisms of genes encoding phase I and II proteins for enzymes and genes encoding transporting proteins.*

**Słowa kluczowe:** farmakogenetyka, polimorfizmy, leki przeciwnowotworowe, toksyczność

**Key words:** pharmacogenetics, polymorphisms, chemotherapeutic drugs, toxicity

### Wstęp

Farmakogenetyka jest dziedziną farmakologii klinicznej, która bada wpływ genotypu i fenotypu człowieka na indywidualną odpowiedź na zastosowane leki oraz ich losy w organizmie. Jej celem jest wyselekcjonowanie w oparciu o badania genetyczne chorych, którzy uzyskają największe korzyści terapeutyczne z zastosowanego leczenia, bez wystąpienia silnych reakcji niepożądanych [1, 2]. Farmakogenetyka zajmuje się badaniem wpływu pojedynczego genu na odpowiedź organizmu na lek oraz interakcje między lekami. Zmiany te stanowią dziedziczną cechę danej osoby. Genetyczna zmienność może także wynikać ze zróżnicowania ekspresji wielu genów w komórkach

poszczególnych tkanek. Badaniem tego typu zmienności zajmuje się farmakogenomika, która jest pojęciem ogólniejszym [1, 3]. Pierwsze badania dotyczące indywidualnych różnic w metabolizmie leków przeprowadził już w 1932 r. Synder (metabolizm fenylkarbotiamidu) oraz Bönicke i Reif, którzy zaobserwowali u chorych na gruźlicę polimorfizm acetylacji leku tuberkulostatycznego – izoniazydu (wolna i szybka acetylacja) [4]. Nazwa „farmakogenetyka” została po raz pierwszy użyta przez Vogela w 1959 r. [5].

Dziedzicznie uwarunkowane różnice w działaniu leków mogą być spowodowane ich odmienną farmakokinetyką, wynikającą z wpływu zmienności genetycznej na budowę i funkcję białek uczestniczących we wchłanianiu, dystrybucji, metabolizmie i wydalaniu leku oraz ich odmienną farmakodynamiką, wynikającą z wpływu na właściwości receptorów, kanałów jonowych oraz transporterów. Farmakokinetyka opisuje zależne od czasu zmiany stężenia substancji leczniczej w różnych narzą-

<sup>1</sup> Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej

<sup>2</sup> II Klinika Radioterapii

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie  
Oddział w Gliwicach

dach organizmu po podaniu określonego leku. Zarówno biotransformacja, jak i wydalanie prowadzą do zmniejszenia stężenia substancji czynnej w organizmie. Farmakodynamika bada wpływ leku na organizm i poszczególne narządy oraz mechanizm jego działania. Odpowiada na pytanie gdzie, jak i dlaczego dochodzi do pojawienia się efektu farmakologicznego [6].

Pojawienie się w populacji genów zmienionych alleli (wariantów alleli w danym *locus*) powoduje kodowanie zmienionych białek, takich jak np. enzymy uczestniczące w metabolizmie leków, białka transportowe, czy białka receptorowe, które mogą w istotny sposób zmienić funkcje leku w organizmie. Jeżeli częstość występowania takich wariantów alleli w populacji wynosi powyżej 1%, to są one klasyfikowane jako polimorfizm genetyczny (częstość występowania stanowi jedno z kryteriów odróżniających polimorfizm od mutacji) [2].

Obecność pewnych wariantów alleli powoduje zmiany w farmakokinetyce leków, a następnie w ich farmakodynamice, skutkując zmianami w efektywności terapeutycznej i możliwością wystąpienia działań niepożądanych. Indywidualne różnice w reakcji na leki, wynikające z polimorfizmu genetycznego, mogą dotyczyć metabolizujących leki enzymów I i II fazy, białek transportujących, białek receptorowych oraz enzymów naprawiających DNA [2].

Molekularne mechanizmy polimorfizmu genetycznego mogą być spowodowane zmianami strukturalnymi powstałymi w sekwencji genu, np. SNP (polimorfizm pojedynczego nukleotydu) i dotyczyć regionu kodującego, niekodującego, sekwencji regulacyjnej, albo intronu. W efekcie powstają zmiany strukturalne łańcucha polipeptydowego, co może manifestować się hiper- lub hipoprodukcją białka, np. enzymu. Funkcjonalnie objawia się to brakiem, obniżeniem lub wzrostem aktywności katalitycznej enzymów. Polimorfizm może być również wynikiem tzw. dużych, strukturalnych zmian w genach, polegających na ich usunięciu (delecji), podwojeniu (duplikacji) lub przemieszczeniu (translokacji). Nasilenie tych zmian zależy od typu polimorfizmu genetycznego, np. delecja prowadzi do największych zmian – obniżona funkcja genu i fenotypowa, natomiast duplikacja powoduje najczęściej wzrost ekspresji strukturalnej i hiperaktywność fenotypową. Zmiana sekwencji DNA kodujących białko (enzymy) prowadzi do zmian metabolizmu leków (farmakokinetyka) oraz w fenotypie receptorowym przez zmianę domen receptorów (farmakodynamika) [2].

Do tej pory wpływ polimorfizmów genowych na aktywność enzymów uczestniczących w metabolizmie opisano dla kilku grup leków. Są to m.in. leki  $\beta$ -adrenolityczne (np. metoprolol, karwedilol), leki antyarytmiczne (np. flekainid, propafenon), trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne (np. amitryptylina, imipramina, dezipramina), selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny SSRI (np. floksetyna, paroksetyna, fluwoksamina), neuroleptyki (np. halperydol, rysperydon), antagoniści 5-HT<sub>3</sub> (np. ondansetron, tropisetron) oraz leki przeciwbólowe (np. dekstrometorfan, kodeina, tramadol) [1, 7, 8]. W onkologii badania farmakogenetyczne dotyczyły między innymi leków takich jak: 5-fluorouracyl, kapecy-

tabina, metotreksat, gemcytabina, tiopuryny, irynotekan, taksany oraz leki alkilujące [9-11].

Celem niniejszej pracy jest systematyczny przegląd zagadnień dotyczących farmakogenetyki leków stosowanych w onkologii, ze szczególnym uwzględnieniem zmienności wynikającej z polimorfizmu genów chorych poddanych terapii cytostatykami.

### Wpływ polimorfizmów genowych na mechanizmy transportu leków

Błony biologiczne zbudowane z dwuwarstwy lipidowej są nieprzepuszczalne dla jonów i cząstek polarnych. Przepuszczalność jest możliwa dzięki obecności w błonie pomp i kanałów. Kanały umożliwiają szybki przepływ jonów przez błony w kierunku termodynamicznie korzystnym. Natomiast pompy prowadzą transport jonów lub cząsteczek w kierunku wzrastającego stężenia, zużywając do tego źródła energii w postaci ATP. Leki o charakterze hydrofilnym wymagają selektywnie działających przenośników, natomiast substancje hydrofobowe przenikają na zasadzie dyfuzji [12, 13]. Białka, które umożliwiają transport aktywny oraz ułatwiają to transportery. Najbardziej istotną rolę w mechanizmie działania leków odgrywają transportery reprezentujące dwie rodziny: ABC (ATP-Binding Cassette) i SLC (Solute Carrier). W działaniu leków przeciwnowotworowych ważną rolę odgrywają transportery ABC [2].

### Mechanizm transportu związany z rodziną transporterów ABC

Transportery z nadrodziny ABC są podzielone na 7 rodzin (oznaczone od A do G). Biorą udział w regulacji absorpcji w jelitach, dystrybucji tkankowej oraz eliminacji przez nerki i wątrobę wielu leków. Regulują przepuszczalność łożyska, bariery krew – mózg oraz krew – jądro. W wątrobie, nerkach oraz przewodzie pokarmowym biorą udział w wydalaniu substancji toksycznych. Odgrywają rolę w działaniu układu odpornościowego, poprzez transport białek do retikulum endoplazmatycznego (ER), które są rozpoznawane jako antygeny przez HLA klasy I (np. ABCB2/TAP1, ABCB3/TAP2). Dodatkowo transportują lipidy i uczestniczą w homeostazie. Geny ABC kodują następujące białka: ABCB1 (glikoproteina P), ABCC1 (MRP1), ABCC2 (MRP2, cMOAT) oraz ABCG2 (BCRP, MXR, ABCP). Uwarunkowane genetycznie zmiany strukturalne białek transporterów wpływają na dystrybucję leków oraz poziom stężenia substancji leczniczej w organizmie. Ma to duże znaczenie w reakcji organizmu na zastosowane leki, w tym na wystąpienie reakcji niepożądanych oraz skuteczności leczenia [14].

Najlepiej poznane i opisane w literaturze zostały warianty genetyczne dotyczące genu *ABCB1* (MDR1) (ATP Binding Cassette subfamily B, member 1 – ABCB1), nazywanego również genem oporności wielolekowej MDR1 (Multi Drug Resistance 1 MDR1), odpowiadającego za wytwarzanie glikoproteiny (P gp). Glikoproteina P należy do grupy kasetowych transpor-

terów wiążących ATP, z którego pochodzi energia umożliwiająca transport przez błonę komórkową. Jest obecna w błonach komórek nabłonka jelita cienkiego, nerek oraz wątroby. Wpływa na absorpcję i eliminację leków. Dzięki obecności w błonach komórek śródbłonka mózgu może decydować o transporcie leków do OUN [15]. Spośród 48 transporterów należących do rodziny ABC, ABCB1 jest jednym z lepiej poznanych. W literaturze opisano około 50 SNP (polimorfizm pojedynczego nukleotydu) i 3 polimorfizmy typu insercja/delecja dotyczących genów kodujących wyżej wymienione białko. Przykładem badanego SNP jest ABCB1 2677G>T/A (G w pozycji 2677 oraz warianty A lub T), które powodują zmianę sekwencji w eksonie 21 (Ala893Ser/Thr). Wpływ tego polimorfizmu oceniany był dotychczas tylko w hodowli na liniach komórkowych. Inny często badany wariant ABCB1 dotyczy tranżycji C na T w pozycji 3435. Porównując genotyp homozygoty CC i TT wykazano obniżenie funkcji ABCB1 w przypadku genotypu CC. Jednakże związek pomiędzy polimorfizmem 3435C>T a funkcją białka ABCB1 pozostaje niepotwierdzony. Chociaż obecność niektórych polimorfizmów wykazuje wpływ na działanie leków to konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań w celu weryfikacji wstępnych wyników [15].

**Mechanizmy transportu związane z białkami oporności wielolekowej (MRP lub ABCC)**

MRPs znajdują się w błonie podstawnej kanalików nerkowych. Katalizują translokację leków i ksenobiotyków sprzężonych z glutationem. Pomimo wykrycia kilku SNPs tego genu brak jest danych dotyczących ich wpływu na kliniczną odpowiedź i toksyczność na stosowane leki [16].

**Mechanizm transportu związany z RFC (zredukowany przenośnik folianów)**

RFC koduje zredukowany przenośnik folianów, będący głównym dokomórkowym transporterem metotreksatu (MTX). Polimorfizmy (SNPs) genu RFC – substytucja G80A w genie RFC1 wpływa na różnice w osoczymym stężeniu MTX [17].

**Mechanizmy transportu związane z hENT i hCNT (transportery nukleozydów)**

hENT i hCNT są białkami transportującymi leki takie jak: gemcytabina, cytarabina oraz fludarabina do wnętrza komórki, gdzie działają na szlaki metaboliczne, wywołując również reakcję toksyczną. Do tej pory wykryto około 58 SNPs dla hCNT. Niektóre z nich tj. S546P, V1891, czy I153del wpływają na aktywność hCNT, ale do szczegółowego określenia ich roli konieczne są dalsze badania [16].

## **Wpływ polimorfizmów genowych na aktywność enzymów biorących udział w metabolizmie leków**

Przemiany chemiczne, jakim podlegają leki w organizmie, określane są jako biotransformacja lub metabolizm. Reakcje metaboliczne dotyczą degradacji lub aktywacji leków za pośrednictwem enzymów. Wyróżnia się 2 fazy reakcji chemicznych zachodzących podczas biotransformacji. I faza to reakcje hydroksylacji, redukcji, czy utleniania. W wyniku przemian zachodzących w pierwszej fazie powstają metabolity zawierające grupy polarne, podatne na reakcje drugiej fazy. II faza to reakcje koniugacji lub sprzęgania ze związkami endogennymi, np: acetylacja, glukuronidacja, metylacja. Produkty przemiany drugiej fazy są przeważnie (z wyjątkiem reakcji acetylacji) rozpuszczalne w wodzie, nieaktywne i łatwo wydalone z organizmu [18].

Na podstawie szybkości przebiegu reakcji enzymatycznych wyróżniono trzy typy metabolizmu leków. „Przeciętnie metabolizujący” to osoby posiadające dwie kopie najczęstszego allelu. Lek metabolizowany jest wówczas zgodnie z oczekiwaniami. „Wolno metabolizujący” to osoby, u których dochodzi do gromadzenia się leku w organizmie, często powyżej zakresu terapeutycznego, co prowadzi do wzrostu toksyczności terapii i wystąpienia reakcji ubocznych. W takim przypadku gen posiada mutacje zmniejszające aktywność przynajmniej jednej kopii genu. „Szybko metabolizujący” dotyczy osób, u których gen posiada zamplifikowane (więcej niż 2) funkcjonalne allele, co prowadzi do szybszego metabolizmu. Leki nie osiągają stężeń terapeutycznych, za to produkt metabolizmu leku może być toksyczny dla organizmu [2].

**Wpływ polimorfizmów genowych na aktywność enzymów I fazy metabolizmu leków**

**Polimorfizmy dotyczące rodziny genów CYP 450**

Bardzo wiele leków stosowanych w onkologii jest metabolizowanych przez cytochrom P450. Jest to bardzo duża rodzina enzymów, które odgrywają główną rolę w metabolizmie I fazy. Większość chemioterapeutyków jest metabolizowana przez enzymy CYP3A, CYP2C, CYP2B, CYP1A oraz CYP3A4. Kodujące je geny ulegają ekspresji głównie w wątrobie i jelicie cienkim. CYP3A5 ulega ekspresji przede wszystkim w wątrobie, a w pozostałych miejscach na bardzo niskim poziomie. Obecność SNP w intronie 3 genu CYP3A5 (CYP3A5\*3) powoduje nieprawidłowy *splicing* mRNA, który następnie koduje białko nieaktywne lub o bardzo małej aktywności. Większość przeprowadzonych dotychczas badań dotyczyła genu CYP3A5. Polimorfizmy tego genu wpływają na farmakodynamikę leków przeciwnowotworowych [16, 19]. Enzymy należące do rodziny cytochromu P450 metabolizują także bardzo dużo innych leków, jak np. warfaryna, erytromycyna, kodeina. Wiele z tych leków pełni funkcję inhibitorów lub induktorów izoform klasy CYP (P450) i może prowadzić do rozwoju różnych interak-

cji lekowych. U osób szybko metabolizujących dany lek może dojść do nagromadzenia toksycznych metabolitów w przypadku jednoczesnego zastosowania leków będących inhibitorem danego izoenzymu. Przykładowo substratami dla CYP2C19 są inhibitory pompy protonowej, leki przeciwdepresyjne, przeciwpadaczkowe, naproksen, propranolol, progesteron. Inhibitory to chloramfenikol, cimetidyna, inhibitory zwrotnego wychwytu serotoniny (fluoksetyna, fluoksamina), omeprazol i tiklopidyna. Induktory to karbamazepina, rifampicyna i prednizon [2]. Aby uniknąć wystąpienia reakcji toksycznych, ważny jest odpowiedni dobór stosowanych jednocześnie leków.

U chorych na raka piersi, leczonych schematami zawierającymi cyklofosamid, wykryto kilka SNP dotyczących alleli *CTP3A4* i *CYP3A5*, których obecność korelowała ze spadkiem metabolizmu cyklofosamidu oraz skróceniem czasu przeżycia [20].

Cytochrom P450 CYP2C8 jest głównym enzymem związanym ze szlakiem metabolicznym, inaktywującym paklitaksel. Również cytochrom CYP3A4 jest zaangażowany w metabolizm tego leku. Wykazano obecność 6 alleli *CYP2C8*. *CYP2C8\*2*, związanych z substytucją Ile269Phe w egzonie 5 oraz *CYP2C8\*3* z substytucją Arg139Lys oraz Lys399Arg w egzonie 3 i 8. Wariant *CYP2C8\*2* występuje tylko u Afro-Amerykanów, natomiast *CYP2C8\*3* przede wszystkim w populacji kaukaskiej. Przeprowadzone *in vitro* badania wykazały zmniejszoną wydajność enzymu *CYP2C8\*3* w metabolizmie paklitakselu, w porównaniu z aktywnością cytochromu *CYP2C8\*1*, co może prowadzić do kumulacji aktywnej postaci leku i wywoływać reakcje toksyczne. Tego typu polimorfizm może mieć w przyszłości znaczenie kliniczne dla chorych będących homozygotami *CYP2C8\*3*, z powodu zwiększonego ryzyka rozwoju reakcji niepożądanych [21].

Cytochromy CYP3A4 oraz CYP3A5 wykazują również dużą aktywność w procesie oksydacji docetakselu do pierwotnego związku pośredniego, a następnie dalej do metabolitów nieaktywnych. Aktualne badania są skoncentrowane na odkrywaniu roli polimorfizmów genów tj: *CYP3A*, *MDR1* oraz *GST* w farmakokinetyce i tolerancji docetakselu. Wstępnie wykazano, że chorzy z allelem *CYP3A1B* mają zwiększony klirens tego leku, co powoduje zmniejszenie efektu leczniczego. Natomiast pacjenci z obecnością genotypów: *GSTP1\*A/\*B* oraz 3435TT *MDR1* charakteryzują się zwiększonym ryzykiem wystąpienia reakcji niepożądanych w postaci powikłań hematologicznych [22].

Ostatnio zwrócono również uwagę na rolę cytochromu *CYP2W1* jako czynnika prognostycznego u chorych leczonych z powodu raka jelita grubego. Wykazano, że duża ekspresja genu kodującego ten cytochrom związana jest z gorszym klinicznym rokowaniem. Znaczenie ekspresji *CYP2W1* jako czynnika prognostycznego wymaga przeprowadzenia dalszych badań [23].

Wpływ polimorfizmów genowych na aktywność enzymów II fazy metabolizmu leków

#### Glukuronylotransferaza UGT

Glukuronylotransferazy (UGT) są enzymami biorącymi udział w sprzęganiu endo- i egzogennych substancji z kwasem glikuronowym. Reakcje katalizowane są przez enzymy obecne w wątrobie i należą do najczęstszych reakcji zachodzących w II fazie. Rodzina genów *UGT* koduje około 30 izoform enzymów UGT, które dzieli się na dwie rodziny białek UGT1 oraz UGT2. Rodzina UGT1 jest odpowiedzialna przede wszystkim za sprzęganie bilirubiny u ludzi [1].

Substratem dla enzymu UGT1A1 jest irynotekan, który należy do inhibitorów topoizomerazy I. Jest prolekiem wymagającym aktywacji przez karboksylazę do aktywnego metabolitu SN-38. Aby SN-38 mógł być usunięty z organizmu z moczem i żółcią, wymaga wcześniejszej koniugacji przez UGT1A1 do postaci bardziej polarnego i nieaktywnego glukuronianu SN-38. U osób leczonych irynotekaniem z małą aktywnością tego enzymu metabolit leku SN-38 ulega kumulacji, co może powodować powikłania w postaci ciężkiej biegunki, leukopenii i małopłytkowości. Region promotorowy *UGT1A1* w większości populacji zawiera od 5 do 8 powtórzeń TA. Najczęściej występuje 6 powtórzeń. Zaobserwowano zależność pomiędzy liczbą powtórzeń a ekspresją *UGT1A1* [24]. Siedem powtórzeń odpowiada wariantowi allelu *UGT1A1\*28*. Obecność tego allelu jest związana z obniżoną ekspresją *UGT1A1*, co powoduje spadek glukuronidacji SN-38 i w konsekwencji zwiększa ryzyko powikłań w postaci leukopenii oraz biegunki. Wykazano również związek pomiędzy genotypem *UGT1A1* a występowaniem neutropenii [25]. Ustalenie genotypu *UGT1A1* może mieć znaczenie kliniczne w przewidywaniu silnych reakcji toksycznych w związku z leczeniem irynotekaniem.

W metabolizmie irynotekanu ważną rolę odgrywają też karboksyloesterazy, CYP3A4 i białka transportowe. Duże znaczenie mają polimorfizmy genu kodującego białka transportujące ABCB1 (MDR1, P-glikoproteinę). Kluczowe znaczenie ma polimorfizm homozygoty allelu T ABCB1 123C>T, który jest związany ze zwiększoną ekspozycją na irynotekan oraz jego metabolit SN-38 [25]. Oprócz metabolizmu irynotekanu enzymy UGT1 biorą także udział w przemianach epirubicyny.

Epirubicyna należy do inhibitorów topoizomerazy II i tak jak inne antracykliny jest w większości metabolizowana w wątrobie. Główny szlak inaktywacji epirubicyny prowadzi do wytworzenia glukuronidu epirubicyny. Jest to dominująca postać leku, obecna w osoczu i wydalana z moczem i żółcią [4]. Według dotychczasowych danych rodzina UGT1A1 nie uczestniczy w metabolizmie tego leku. W mikrosomach wątroby, gdzie odbywa się glukuronidacja epirubicyny, wykryto wysoką ekspresję genu *UGT2B7* należącego do rodziny *UGT2B*. Obecnie wykryto dwa polimorfizmy tego genu *UGT2B7(Y)* oraz

*UGT2B7(H)*, dotyczące kodonu 268 [26]. Jednakże nie wydaje się, aby odgrywały one jakąś rolę w procesie glukuronidacji. Obniżona zdolność tego procesu ma duże znaczenie w przewidywaniu reakcji toksycznej w odpowiedzi na zastosowane leczenie [25].

#### Rodzina enzymów GST (transferaza S glutationowa)

GST to rodzina dimerycznych enzymów, które odpowiadają za sprzęganie egzogennych i endogennych substancji z glutationem. Glutation przeciwdziała uszkodzeniom DNA poprzez wiązanie związków toksycznych w cytoplazmie i tym samym zapobieganie ich interakcji z kwasem nukleinowym. Substratami dla GST, zwłaszcza dla podklasy P1 (GSTP1), są aktywne metabolity cyklofosfamidu oraz pochodnych platyny [27, 28]. U ludzi zidentyfikowano 13 enzymów GST, należących do kilku podklas. Obecnie wyróżnia się 6 głównych podklas GST (GST $\alpha$ , GST $\pi$ , GST $\mu$ , GST $\omega$ , GST $\theta$  oraz GST $\xi$ ) [4]. Kilka z nich wykazuje związek z opornością na leki, GST $\alpha$  – na związki alkilujące [29], GST $\pi$ 1 – cisplatynę, oksaliplatynę [30] i doksorubicynę [31]. GST $\pi$ 1 odgrywa szczególną rolę w procesie koniugacji reaktywnych metabolitów cyklofosfamidu z glutationem. SNP GST $\pi$ 1 genów powodujące substytucję izoleucyny w miejsce waliny w kodonie 105 (I105V) ma związek z aktywnością tego enzymu. Wykazano, że wariant z waliną w kodonie 105 cechuje się mniejszą aktywnością GST, w porównaniu z obecnością allelu izoleucyny. U chorych na raka piersi o genotypie homozygoty (Val/Val), leczonych cyklofosfamidem, obserwowano dłuższy czas przeżycia, w porównaniu z chorymi będącymi homozygotami allelu izoleucyny (Ile/Ile). Heterozygoty Ile/Val cechowały się pośrednim okresem przeżycia [32].

U chorych leczonych z powodu zaawansowanego raka jelita grubego, schematami zawierającymi 5Fu i oksaliplatynę, obecność polimorfizmu Ile105Val A/G SNP wpływa na wydłużenie czasu przeżycia [30]. Podobne wyniki uzyskano u chorych leczonych z powodu zaawansowanego raka żołądka, otrzymujących 5Fu i cisplatynę. Krótszy czas przeżycia wolny od progresji oraz całkowity czas przeżycia zaobserwowano w przypadku genotypu GSTP1 105A/A, w porównaniu z genotypami GSTP1G/G oraz GSTP1G/A [27, 30]. Ukazały się także badania, w których wykazano brak związku pomiędzy polimorfizmem GSTP1 Ile105Val, a odpowiedzią na chemioterapię zawierającą oksaliplatynę, u chorych na raka jelita grubego [33].

W odniesieniu do tolerancji leczenia cisplatyną znaczenie predykcyjne wykazuje allel GST $\pi$ 3\*B. Chorzy z tym allelem charakteryzowali się większym ryzykiem rozwoju ototoksyczności [4].

#### TPMT (metylotransferaza tiopuryny)

Substratami enzymu metylotransferazy tiopuryny (Thiopurine S Methyltransferase – TPMT) są leki należące do antagonistów puryn (tiopuryny): 6-merkaptopuryna (6-MPT), azatiopryna oraz 6-tioguanina. Są nieaktywne

mi prolekami, które wymagają enzymatycznej aktywacji do postaci aktywnych metabolitów. Właściwości toksyczne nabywają dzięki konwersji do nukleotydów tioguaniny (TGN), np. merkaptopuryna do wewnątrzkomórkowej postaci rybonukleotydu 6-merkaptopuryny. Cytotoksyczne działanie tiopuryn polega na włączeniu fałszywych nukleotydów do kwasów nukleinowych [2, 4]. Istnieją trzy główne szlaki metaboliczne przemiany 6-MPT. HGPRT katalizuje aktywację 6-MPT do 6-TGN. Oksydaza ksantynowa na drodze oksydacji inaktywuje 6-MPT. TPMT katalizuje reakcję metylacji tiopuryn, co prowadzi do powstania nieaktywnych metabolitów i stanowi mechanizm ochrony przed ich toksycznym działaniem. Niska aktywność tego enzymu powoduje nagromadzenie w komórce toksycznych metabolitów w postaci nukleotydów tioguaniny, hamujących czynność szpiku. Może to prowadzić do reakcji toksycznej, takiej jak zagrażająca życiu cytopenia [4, 34]. Gen *TPMT* jest zlokalizowany na chromosomie 6p22.3 i składa się z 10 eksonów. Polimorfizm genu *TPMT* jest związany ze skutecznością i toksycznością tiopuryn. Do tej pory zidentyfikowano 22 allele (*TPMT*\*1 – *TPMT*\*22), związane z istnieniem trzech genotypów metabolicznych o: normalnej, wysokiej i pośredniej zdolności metylacji oraz o braku aktywności [35]. U chorych z genetycznie uwarunkowanym brakiem TPMT dochodzi do kumulacji TGN w toksycznych stężeniach. Redukcja aktywności TPMT jest odpowiedzialna za toksyczność w standardowych dawkach 6-MP, powodując ciężką lub nawet zagrażającą życiu mielosupresję. Najpowszechniejsze allele to *TPMT*\*2, *TPMT*\*3A i *TPMT*\*3C. Odpowiadają one w 80-95% za niską lub pośrednią aktywność enzymu [4, 35]. *TPMT*\*3A jest najczęściej spotykany w populacji kaukaskiej, natomiast *TPMT*\*3C w populacji Azjatów, Afrykanów i Afro-Amerykanów [36]. Około 10% populacji kaukaskiej jest heterozygotami i około 0,3% homozygotami pod względem nieaktywnych alleli. Te dwie grupy wykazują zredukowaną lub całkowity brak aktywności TPMT. W takim przypadku terapia tiopurynami może powodować zagrażającą życiu toksyczność hematopoetyczną, w wyniku akumulacji nukleotydów tioguaniny. U niektórych chorych istnieje konieczność zmniejszenia dawek nawet do 10% należnej dawki w przypadku homozygoty. Większość chorych z heterozygotycznym fenotypem TPMT wykazuje pośrednią tolerancję w odniesieniu do terapii tiopurynami. Indywidualizacja leczenia tiopurynami, redukcja dawki do 10% należnej dawki dla homozygot i 6-50% w przypadku heterozygot, pozwoliła na zastosowanie leczenia oraz uzyskania przeżycia podobnego, jak u chorych prawidłowo metabolizujących chemioterapeutyk [37].

#### DPYD (dehydrogenaza dihydropiryminy)

Substratem dla DPD jest 5-fluorouracyl, który jest antagonistą uracylu lub tyminy. Jako prolek wymaga aktywacji do swojej aktywnej postaci monofosforanu 5-fluorodeoksyuridy (5-FdUMP), który hamuje aktywność syntazy tymidylowej i tym samym hamuje metylację kwasu deoksyuridylowego do kwasu tymidylowego. Prowadzi to do

zahamowania syntezy DNA. Dodatkowo monofosforan 5-fluorodeoksyurydyny zostaje wbudowany do RNA. Około 85% 5-Fu jest inaktywowane do dihydrofluorouracylu w wątrobie przez DPYD. Redukcja aktywności tego enzymu prowadzi do wydłużenia czasu półtrwania 5-Fu i wzrostu ryzyka wystąpienia ciężkiej reakcji toksycznej. U osób z małą aktywnością DPD, leczonych fluorouracylem, dochodzi do pogorszenia tolerancji leczenia. Może rozwinąć się mielosupresja oraz toksyczne zaburzenia czynności układu nerwowego i przewodu pokarmowego [37, 38].

Do tej pory wykryto około 39 mutacji i polimorfizmów związanych ze zredukowaną aktywnością enzymu DPYD [39]. Spośród ogólnej populacji 3-5% osób posiada genotyp heterozygotyczny pod względem mutacji związanej z obniżoną aktywnością enzymu DPYD, natomiast 0,1% ma genotyp homozygotyczny [40]. Transycja A → G w pozycji 1986 (allel *DPYD\*2A*) (*IVA14+1G>A*) prowadzi do utraty eksonu 14 i powstania nieaktywnego enzymu. Powstaje białkowy produkt składający się z 55 aminokwasów z brakiem aktywności enzymatycznej. Prawie 50% inaktywacji DPYD jest związana z tą mutacją [4, 41].

Przeprowadzone zostały badania dotyczące zależności pomiędzy genotypem, a reakcją toksyczną na zastosowanie 5-Fu w terapii raka jelita grubego. Spośród pacjentów, u których po zastosowaniu 5-Fu rozwinęła się toksyczność 3-4 stopnia według WHO, 25% było heterozygotami pod względem alleli *DPYD\*2A* [4]. U chorych z brakiem aktywności DPD ogólna toksyczność była dwa razy większa, w porównaniu z umiarkowanym niedoborem tego enzymu [42]. W innych badaniach wykazano natomiast brak różnicy pomiędzy niską i normalną aktywnością GPD w odniesieniu do toksyczności hematologicznej, gastrologicznej oraz objawów grypopodobnych. Wyjątek stanowiła neutropenia (4 stopień WHO), której ryzyko rozwoju było 3,4 razy większe u osób z umiarkowanym niedoborem enzymu, w porównaniu z prawidłową aktywnością DPD [39]. Ogólnie przyjmuje się jednak, że niska aktywność DPD jest związana ze słabą inaktywacją 5-Fu i kumulacją toksycznych antymetabolitów.

#### TS (syntetaza tymidylanowa)

TS bierze udział w szlaku biosyntezy nukleotydów pirymidynowych podczas syntezy DNA. Katalizuje metylację deoksyurydylanu (dUMP) do deoksytymidylanu (dTMP). Poziom TS koreluje z odpowiedzią na leczenie 5-Fu. Fluorouracyl (fluorodeoksyurydyna) jest nieodwracalnym inhibitorem metylacji dUMP. Zahamowanie TS, związanej z syntezą pirymidyn, powoduje przerwanie syntezy DNA i spowalnia replikację komórek nowotworowych. W efekcie dochodzi do śmierci komórki. TS jest głównym celem działania 5-Fu [36].

Wiele badań wskazuje na odwrotnie proporcjonalny związek pomiędzy mRNA i poziomem białka, a odpowiedzią kliniczną na leczenie [43]. Poziom ekspresji TS różni się w przypadku poszczególnych nowotworów i tak samo różna jest wrażliwość nowotworów na terapię 5-Fu.

Hamowana przez 5-Fu aktywność enzymu TS jest zależna od liczby tandemowych powtórzeń 28 bp (VNTR) w obrębie promotora genu TS. Polimorfizm TS związany jest z ilością powtórzeń w obrębie promotora genu TS. Mogą występować allele z 2, 3, 4, 5, lub z 9 kopiami powtórzonych sekwencji. Allele z 2 lub 3 kopiami są najczęściej spotykane. Obecność 3 kopii prowadzi do wzrostu poziomu białka TS. Badania *in vivo* wykazały, że oporność na leczenie 5-Fu wzrasta proporcjonalnie do liczby powtórzeń tandemowych w obrębie promotora genu TS [33, 35].

Wysoka ekspresja TS koreluje z krótszymi czasami przeżycia u chorych na zaawansowanego raka jelita grubego. Badania były przeprowadzone wśród 50 chorych na nowotwory jelita grubego z obecnością przerzutów odległych. U chorych otrzymujących 5-Fu, z małą liczbą powtórzeń tandemowych, wykazano wysoki odsetek odpowiedzi na leczenie. Chorzy z genotypem *TSER\*2* wykazali 50% odpowiedź na leczenie, w porównaniu z 9% odpowiedzi u osób z genotypem *TSER\*3* [44]. Częstość występowania genotypu *TSER\*3* jest wyższa w populacji Chińczyków i Japończyków (67%), w porównaniu z populacjami kaukaską i azjatycką (38%) [45].

Prognostyczne znaczenie genotypu *TSER* (*TSER\*2* i *TSER\*3*) zostało również wykazane u chorych leczonych kapecytabiną z powodu raka jelita grubego. Odpowiedź na leczenie kapecytabiną zaobserwowano u 75% chorych będących homozygotami pod względem *TSER\*2* oraz u 25% chorych będących homozygotami *TSER\*3* [46].

Chorzy będący homozygotami pod względem *TSER\*3*, leczeni metotreksatem z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej, wykazywali zwiększone ryzyko nawrotu lub śmierci, w porównaniu z osobami o genotypie homozygotycznym *TSER\*2* [47].

#### MTHFR (reduktaza 5, 10 – metylenotetrahydrofolianowa)

MTHFR jest ważnym enzymem w metabolizmie folianów. Katalizuje konwersję 5, 10 metylenotetrahydrofolian (5,10 MTHF) do 5-metylenotetrahydrofolianu (5 MTHF), który jest donorem grup metylowych do metylacji DNA oraz bierze udział w konwersji homocysteiny w metioninę podczas syntezy białek [35]. Znanych jest wiele polimorfizmów tego enzymu. Jeden z nich dotyczy zamiany C na T w nukleotydzie 677 (*C677T*), co prowadzi do obniżenia aktywności enzymu u homozygot (*T/T* i *C/C*) o 30% w porównaniu z heterozygotami (*C/T*). Pacjenci z wariantem 677 C → T wykazują obniżoną zdolność remetylacji homocysteiny do metioniny, w konsekwencji czego rozwija się hiperhomocysteinemia [4, 41, 48]. Obniżenie aktywności enzymu prowadzi także do kumulacji 5-MTHF. Powoduje to wahania puli folianów i zwiększa ryzyko wystąpienia reakcji toksycznej (supresja szpiku, zapalenie błony śluzowej jamy ustnej) u chorych otrzymujących leki takie jak metotreksat (MTX) [4]. Częstość występowania tego polimorfizmu wynosi 24-40% w populacji kaukaskiej (10-12% to homozygoty pod względem allelu *TT*), 26-37% u Japończyków, 11% wśród

Afro – Amerykanów i 6,6% w populacji amerykańskiej. Zredukowaną aktywność MTHFR opisano także u chorych z obecnością polimorfizmu A1298C (Glu > Ala) [34]. Przeprowadzono kilka badań, których celem była ocena korelacji pomiędzy genotypem MTHFR, a skutecznością i toksycznością MTX. U chorych na raka piersi leczonych uzupełniająco CMF zaobserwowano wystąpienie toksyczności 4 i 3 stopnia według WHO (neutropenia, zapalenie błon śluzowych przewodu pokarmowego) już po pierwszym cyklu terapii. Większość z badanych osób, u których zaobserwowano silną reakcję toksyczną, charakteryzowała się genotypem T/T *MTHFR*. Pozwoliło to stwierdzić, że osoby z tym genotypem są szczególnie narażone na wystąpienie silnej reakcji toksycznej już na początku leczenia [48].

MTX samodzielnie lub za pośrednictwem poliglutaminianów hamuje aktywność reduktazy dihydrofolianowej (DHFR), enzymu odpowiedzialnego za redukcję dihydrofolianu do tetrahydrofolianu. SNP w regionie 3' UTR DHFR (zamiana T na C w pozycji 829) jest związana z opornością na MTX, z powodu wzrastającej ekspresji DHFR mRNA i wzrostu aktywności reduktazy [49]. W szlaku metabolizmu folianów uczestniczy wiele enzymów. Polimorfizm dotyczący któregośkolwiek z nich może wpływać na skuteczność leczenia MTX i rozwój reakcji toksycznych.

#### CDA (deaminaza cytydyny)

CDA jest enzymem, który inaktywuje leki takie jak: gemcytabina i cytarabina. Przeprowadzono kilka badań mających na celu wykrycie polimorfizmów CDA o klinicznym znaczeniu. Dwa polimorfizmy: CDA 79A>C (\*2, K27Q) oraz CDA 208G>A (\*3, A70T) wykazują szczególnie związek z rozwojem reakcji toksycznych na zastosowane leczenie. Zaobserwowano związek pomiędzy obecnością allelu \*3 a parametrami farmakokinetycznymi oraz stężeniem CDA w osoczu. U chorych będących homozygotami pod względem allelu \*3 wystąpiły ostre reakcje toksyczne, obejmujące neutropenię 4. stopnia według WHO, trombocytopenię 4. stopnia oraz wysypkę 3. stopnia według WHO. Allel \*2 nie wykazuje takiego wpływu na farmakokinetykę leku oraz wystąpienie efektów toksycznych po zastosowaniu gemcytabiny [4]. U chorych leczonych z powodu niedrobnokomórkowego raka płuca gemcytabiną i cisplatyną analizowano polimorfizm CDA Lys27Gln. Wykazano związek między wystąpieniem ostrej neutropenii i trombocytopenii, wydłużeniem czasu do progresji oraz całkowitego czasu przeżycia a obecnością tego polimorfizmu [50].

#### Wpływ polimorfizmów genowych na mechanizm naprawy uszkodzonego DNA

Wiele leków stosowanych podczas chemioterapii ma zdolność modyfikacji chemicznej struktury DNA, prowadząc do jej uszkodzenia. Dotyczy to zwłaszcza cytostatyków alkilujących oraz antymetabolitów. Po wykryciu przez komórkę uszkodzeń uruchomione zostają mechani-

zmy naprawy, które prowadzą do usunięcia uszkodzenia i odtworzenia prawidłowej struktury DNA. Jeśli nie jest możliwa naprawa, uruchamiany zostaje proces apoptozy, który eliminuje nieprawidłową komórkę. Znane są różne sposoby naprawy DNA, takie jak: fotoreaktywacja (proces enzymatyczny powodujący rozszczepienie dimerów pirymidynowych, powstających w DNA pod wpływem promieni ultrafioletowych), działanie alkilotransferazy (indukowane białko specyficzne, usuwające grupy alkilowe z bezpośrednio mutagennej O6-alkiloguaniny) oraz naprawa przez wycinanie.

Istnieją dwa typy naprawy uszkodzeń przez wycinanie: przez wycinanie nukleotydu (NER) oraz przez wycięcie zasady (BER). W przypadku mechanizmu naprawy BER modyfikowane zasady są rozpoznawane przez specyficzne N-glikozylazy. Dochodzi do hydrolytycznego rozpadu wiązania N-glikozydowego między zasadą, a cząsteczką cukru. W łańcuchu DNA pozostają reszty deoksyrybozylowe, czyli miejsca purynowe/pirymidynowe. Następnie przy udziale AP-endonukleaz następuje rozpad szkieletu fosfocukrowego w tych miejscach. Egzonukleazy usuwają uszkodzone miejsca wraz z sąsiadującymi nukleotydami. Następnie przeprowadzona zostaje resynteza fragmentu DNA przez polimerazę DNA oraz integracja z pozostałą częścią DNA przez ligazę. Mechanizm NER uruchamiany jest wtedy, gdy powstają uszkodzenia w strukturze podwójnego heliksu DNA, wówczas wycinaniu podlegają całe nukleotydy. Miejsce uszkodzenia rozpoznawane jest przez specyficzne endonukleazy, przecinające wiązania fosfodiesterowe po obu stronach uszkodzonego fragmentu. Polimeraza DNA syntezuje brakujący odcinek, wykorzystując nienaruszoną nić jako matrycę. Nowo powstały fragment łączy się z DNA przy udziale ligazy. Uszkodzony odcinek usuwany jest przez enzymy o aktywności egzonukleolitycznej. Jeśli uszkodzenie obejmuje obie nici DNA, wówczas naprawa odbywa się w mechanizmie naprawy poreplikacyjnej. Może dochodzić do wymiany całego dwuniciowego odcinka na drodze rekombinacji, a następnie usunięcia uszkodzonego fragmentu [51, 52].

Podsumowując, w mechanizm naprawy uszkodzeń zaangażowanych jest wiele białek o różnej aktywności enzymatycznej (egzonukleazy, endonukleazy, ligazy, inwertazy, polimerazy, helikazy, topoizomerazy, glikozylazy, flippazy). Białka te są kodowane przez geny naprawy DNA [52]. Badanie SNPs tych genów może pozwolić na określenie odpowiedzi na zastosowane leczenie.

#### MGMT (DNA metylotransferaza – O6 metyloguaniny)

Związki takie jak: dakarbazyna, temozolamid, nitrozo-mocznik oraz streptozotocyna mogą alkilować guaninę w pozycji O6. Za naprawę alkilowanej guaniny odpowiada MGMT, który przenosi guaninę z pozycji O6 do miejsca akceptorowego cysteiny. W przypadku nadmiernej aktywności tego enzymu może dojść do oporności na wspomniane wyżej leki. Polimorfizm Gly160Arg, spotykany u 15% populacji Japończyków, powoduje znaczny

spadek aktywności MGMT, w porównaniu z allelem typu niezmutowanego i zdolności naprawy DNA [53].

XRCC1 (grupa pierwsza enzymów naprawiających uszkodzenia powstałe w wyniku działania promieni X)

Enzymy XRCC1 są również związane z naprawą uszkodzeń DNA w mechanizmie ich wycinania. Leki z grupy pochodnych platyny jak: cisplatyna, karboplatyna i oksaliplatyna powodują powstanie połączeń krzyżowych pomiędzy sąsiednimi nićmi DNA, a następnie pęknięcie wiązań wodorowych pomiędzy guaniną a cytozyną, co prowadzi do miejscowej denaturacji łańcucha DNA. Powstają wówczas addukty (grupy chemiczne dołączone do DNA w wyniku procesów takich jak: depurynacja, deaminacja, hydroliza, nieenzymatyczna metylacja, które zachodzą podczas uszkodzania DNA) wewnątrz i pomiędzy nimi [4, 13]. Badania przeprowadzone u chorych leczonych z powodu raka jelita grubego oksaliplatyną i 5-Fu wykazały związek pomiędzy polimorfizmem genu *XRCC1* a odpowiedzią na leczenie. Polimorfizm dotyczył SNPs kodujących argininę lub glutaminę w kodonie 399. Spośród chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie, 73% posiadało genotyp arginina/arginina. Natomiast u 66% osób, którzy nie odpowiedzieli na zastosowane leczenie, wykryto genotyp glutamina/glutamina lub glutamina/arginina. Konsekwencją tego jest zmniejszona zdolność naprawy uszkodzeń DNA [54].

ERCC1 i ERCC2 (grupa 1 i 2 enzymów naprawiających uszkodzenia na drodze wycięcia)

Znanych jest kilka polimorfizmów genu *ERCC1*, który koduje helikazę – enzym niezbędny do naprawy DNA na drodze wycinania nieprawidłowych nukleotydów. Istnieje związek pomiędzy kliniczną opornością na leczenie pochodnymi platyny, a podwyższoną ekspresją tego genu w tkance nowotworowej (nowotwory jajnika, jelita grubego oraz płuca) [55]. Analizowano przeżycia chorych na raka płuca leczonych schematami zawierającymi platynę w odniesieniu do posiadanego genotypu. Pacjenci będący homozygotami pod względem allelu w kodonie 118 (C/C) wykazali wydłużony czas przeżycia [56].

Kolejny gen kodujący helikazę to *ERCC2*. Istnieje kilka polimorfizmów tego genu, które kodują enzymy o różnej zdolności do naprawy uszkodzonego DNA. W badaniach obejmujących 73 chorych leczonych 5-Fu i oksaliplatyną z powodu raka jelita grubego zaobserwowano związek pomiędzy SNPs a odpowiedzią na leczenie i przeżycie. Tylko 10% chorych z genotypem lizyna/glutamina (L/G) lub glutamina/glutamina (G/G) uzyskało obiektywną odpowiedź, w porównaniu z genotypem lizyna/lizyna (L/L), u których odpowiedź wynosiła 24%. Średnie przeżycie w grupie homozygot L/L wynosiło 17,4 miesiące, w grupie heterozygot L/G 12,8 miesiące, natomiast w grupie homozygot G/G były to 3,3 miesiące. Wariant genotypu homozygota L/L związany jest

z kodowaniem enzymów o większej zdolności naprawczej DNA [56].

Należące do rodziny *ERCC* geny *ERCC 3, 4 i 5* wykazują związek z wzrostem ryzyka zachorowania na nowotwory, ale wyniki te nie zostały dokładnie udokumentowane [4].

Polimorfizm *hMSH2* i *MLH1* (geny naprawiające *mismatch*)

Polimorfizm genu *hMSH2* odpowiada za wzrost wrażliwości DNA na czynniki uszkodzające. Natomiast polimorfizm genów *MLH1* prowadzi do oporności na inhibitory topoizomerazy oraz związki alkilujące [57]. Badania przeprowadzone na linii komórek raka piersi wykazały, że utrata funkcji *MSH2* lub *MLH1* prowadzi do rozwoju oporności na inhibitory topoizomerazy, tj. doksorubicyna i epirubicyna [58].

## Podsumowanie

Chociaż farmakogenetyka jest niezwykle obiecującą dziedziną nauki, jej osiągnięcia nie znalazły jeszcze szerokiego zastosowania w codziennej praktyce klinicznej. Pomimo przeprowadzenia wielu badań nie udało się jeszcze zidentyfikować polimorfizmów, które byłyby jednoznacznie związane z odpowiedzią na leczenie i predyspozycją do wystąpienia reakcji niepożądanych. Niektóre uzyskane dane pozwalają jednak na wyznaczenie kierunków dalszych badań w celu wyodrębnienia grup chorych, którzy mogą uzyskać największą korzyść z leczenia, przy minimalizacji skutków niepożądanych. Z pewnością konieczne będzie przeprowadzenie badań na większych grupach, chorych, z uwzględnieniem różnic etnicznych.

**Dr n. biol. lek. Joanna Huszno**

Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej  
Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie  
Oddział w Gliwicach  
ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-100 Gliwice  
email: joahus@wp.pl

## Piśmiennictwo

1. Niewiński P, Orzechowska-Juzwenko K, Milejski P. Farmakogenetyka. Orzechowska-Juzwenko K (red.) *Farmakologia kliniczna. Znaczenie w praktyce medycznej*. Wrocław: Górnicki Wydawnictwo Medyczne, 2006, 145-61.
2. Hładoń B. Farmakogenetyka. Janiec W (red.) *Farmakodynamika. Podręcznik dla studentów farmacji*. Warszawa: PZWL Wydawnictwo Lekarskie, 2009; 2: 69-88.
3. Sławiński J. Farmakogenetyka – nowe spojrzenie na badanie kliniczne. *Medycyna Praktyczna* 2003; 1: 219-23.
4. Abraham J, Earl HM, Pharoah PD i wsp. Pharmacogenetics of cancer chemotherapy. *Biochem Biophys Acta* 2006; 1766: 168-83.
5. Daniel WA. Farmakogenetyka. Polimorfizm genetyczny działania leków w fazie farmakokinetycznej i farmakodynamicznej – znaczenie farmakologiczne i toksykologiczne. Bal J (red.) *Biologia molekularna w medycynie. Elementy genetyki klinicznej*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN; 2008, 262-85.



6. Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK i wsp. Część ogólna. Buczek W (red.) *Kompendium farmakologii i toksykologii Mutschlera*. Wrocław: MedPharm, 2008, 5-37.
7. Spear BB, Heath – Chiozzi M, Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *TRENDS Mol Med* 2001; 7: 201–04.
8. Steimer W, Potter JM. Pharmacogenetic screening and therapeutic drugs. *Clin Chim Acta* 2002; 315: 137-55.
9. Danesi R, Di Paolo A, Bocci G i wsp. Pharmacogenetics in oncology *Eur J Cancer* 2008; 6: 74-78.
10. Di Paolo A, Danesi R, Del Tacca M. Pharmacogenetics of neoplastic diseases: new trends. *Pharmacol Res* 2004; 49: 331-42.
11. Petros WP, Evans WE. Pharmacogenomics in cancer therapy: is host genome variability important? *TRENDS Pharmacol Sci* 2004; 25: 457-64.
12. Alberts B, Bray D, Johnson A. i wsp. Transport przez błony. Michejda J, Augustyniak J. *Podstawy biologii komórki. Wprowadzenie do biologii molekularnej*. Warszawa: PWN; 2005, 389-420.
13. Epstein RJ. Błony i kanały. Lewiński A, Liberski P (red.) *Biologia molekularna człowieka. Molekularne podłoże zjawisk w stanie zdrowia i w przebiegu choroby*. Lublin: Wydawnictwo Czelej; 2005, 181-200.
14. Sparreboom A, Danesi R, Ando Y i wsp. Pharmacogenomics of ABC transporters and its role in cancer chemotherapy. *Drug Resist Updates* 2003; 6: 71-84.
15. Gillet JP, Efferth T, Remacle J. Chemotherapy – induces resistance by ATP-binding cassette transporter genes. *Biochem Biophys Acta* 2007; 1775: 237-62.
16. Abraham J, Earl HM, Phoroah PD i wsp. Pharmacogenetics of cancer chemotherapy. *Biochem Biophys Acta* 2006; 1766: 168-83.
17. Laverdiere C, Chiasson S, Costea I i wsp. Polymorphism G80A in the reduced folate carrier gene and its relationship to methotrexate plasma levels and outcome of childhood lymphoblastic leukaemia. *Blood* 2002; 100: 3832-34.
18. Gorczyca M. Biotransformacja leków. Zejc A, Gorczyca M (red.) *Chemia leków*. Warszawa: PZWL Wydawnictwo Lekarskie; 2008; 1: 757-73.
19. Kuehl P, Zhang J, Lin Y i wsp. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 2001; 27: 383-91.
20. Hutchinson E. Working towards tailored therapy for cancer. *Lancet* 2001; 357: 1508.
21. Ron H, Schalk N. CYP50 pharmacogenetics for personalizing cancer therapy *Drug Resist Updates* 2008; 11: 77-98.
22. Trans A, Jullien V, Alexandre J i wsp. Pharmacokinetics and toxicity of docetaxel: role of CYP3A, MDR1 and GST polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 79: 570-80.
23. Edler D, Stendstedt K, Öhrling K i wsp. The expression of the novel CYP2W1 enzyme is an independent prognostic factor in colorectal cancer – A pilot study. *Eur J Cancer* 2009; 45: 705-12.
24. Jong F, Maja J, de Jonge A i wsp. Role of pharmacogenetics in irinotecan therapy. *Cancer Letters* 2006; 234: 90-106.
25. Iyer L, Das L, Janiach M i wsp. UGT1A1\*28 as a determinant of irinotecan disposition and toxicity. *Pharmacogenomics J* 2002; 2: 43-47.
26. Jin CJ, Miners JO, Lillywhite KJ i wsp. cDNA cloning and expression of two new members of the human liver UDP – glucuronosyltransferase 2B subfamily. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 194: 496-503.
27. Scartozzi M, Bittoni A, Pistelli M i wsp. Toward molecularly selected chemotherapy for advanced gastric cancer: State of the art and future perspectives. *Cancer Treatment Rev* 2009; 35: 451-62.
28. Kwekel DM, Gelderblom H, Antonini NF i wsp. Glutathione – S-transferase pi (GSTP1) codon 105 polymorphism is not associated with oxaliplatin efficacy or toxicity in advanced colorectal cancer patients. *Eur J Cancer* 2009; 45: 572-78.
29. Pandya U, Srivastava SK, Singhal SS i wsp. Activity of allelic variants of Pi class human glutathione – S – transferase toward chlorambucil. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 278: 258-62.
30. Stoehlmacher J, Park DJ, Zang W i wsp. Association between glutathione – S- transferase P1, T1 and M1 genetic polymorphisms and survival of patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Inst* 2002; 94: 936-42.
31. Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione – S- transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1995; 30: 445-600.
32. Sweeney C, McClure GY, Fares MY i wsp. Association between survival after treatment for breast cancer and glutathione – S – transferase P1 Ile105Val polymorphism. *Cancer Res* 2000; 60: 5621-24.
33. Watters JW, McLeod HL. Cancer pharmacogenomics: current and future application. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1603: 99-111.
34. Iyer L, Ratain MJ. Pharmacogenetics and Cancer Chemotherapy. *Eur J Cancer* 1998; 34: 1493-99.
35. Mladovicova B, Carter A, Kristova V. Genetic tests for predicting the toxicity and efficacy of anticancer chemotherapy. *Neoplasma* 2007; 54: 181-88.
36. Nagasubramanian R, Innocenti F, Ratain MJ. Pharmacogenetics in cancer treatment. *Annu Rev Med* 2003; 54: 437-52.
37. Innocenti F, Ratain MJ. Update of pharmacogenetics in cancer chemotherapy. *Eur J Cancer* 2002; 38: 639-44.
38. Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK i wsp. Chemioterapia nowotworów złośliwych. Buczek W (red.) *Kompendium farmakologii i toksykologii Mutschlera*. Wrocław: MedPharm, 2008, 413-28.
39. André B, van Kuilenburg P. Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5 fluorouracil. *Eur J Cancer* 2004; 40: 939-50.
40. Lu Z, Diasio RB. Dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human peripheral blood mononuclear cells and liver: population characteristic, newly identified deficient patients and clinical implications in 5 fluorouracil chemotherapy. *Cancer Res* 1993; 53: 5433-38.
41. Di Paolo A, Danesi R, Del Tacca M. Pharmacogenetics of neoplastic diseases: new trends. *Pharmacological Res* 2004; 49: 331-42.
42. Milano GA, Etienne MC, Pierrefite V i wsp. Dihydropyrimidine dehydrogenase and fluorouracil related toxicity. *Br J Cancer* 1999; 79: 627-30.
43. Nishimura R, Nagao K, Miyayama H i wsp. Thymidylate synthetase levels as a therapeutic and prognostic predictor in breast cancer. *Anticancer Res* 1999; 19: 5621-26.
44. Pullarkat ST, Stoehlmacher J, Ghaderi V i wsp. Thymidylate synthetase gene polymorphism determines response and toxicity of 5Fu chemotherapy. *Pharmacogenomics J* 2001; 1: 65-70.
45. Marsh S, Collie – Duguid ES, Li T i wsp. Ethnic variation in the thymidylate synthetase enhancer region polymorphism among Caucasian and Asian populations. *Genomics* 1999; 58: 310-12.
46. Park DJ, Stoehlmacher J, Zhang W i wsp. Thymidylate synthetase gene polymorphism predicts response to capecitabine in advanced colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2002; 17: 46-49.
47. Krajcinovic M, Costa I, Chiasson S. Polymorphism of the thymidylate synthetase gene and outcome of acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 2002; 359: 1033-34.
48. Toffoli G, Veronesi A, Boiocchi M i wsp. MTHFR gene polymorphism and severe toxicity during adjuvant treatment of early breast cancer with cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil (CMF). *Ann Oncol* 2000; 11: 373-75.
49. Goto Y, Yue L, Yokoi A i wsp. A novel single-nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of the human dihydrofolate reductase gene with enhanced expression. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1952-56.
50. Tibaldi C, Giovanetti E, Vasile E i wsp. Correlation of CDA, ERCC1, and XPD polymorphisms with response and survival in gemcitabine/ cisplatin – treated advanced non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1797-803.
51. Gajewski W. Mutagenesa, reperacja i rekombinacja DNA. Węgleński P (red.) *Genetyka molekularna*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN; 2000, 248-78.
52. Widlak P. Struktura chromatyny, a powstawanie i naprawa uszkodzeń DNA. *Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych*, 2002; 51: 5-12.
53. Imai Y, Oda H, Nakatsuru Y i wsp. A polymorphism at codon 160 of human 06- metyloguanine – DNA methyltransferase gene in young patients with adult type cancers and functional assay. *Carcinogenesis* 1995; 16: 2441-45.
54. Stoehlmacher J, Ghaderi V, Iobal S i wsp. A polymorphism of XRCC1 gene predicts for response to platinum based treatment in advanced colorectal cancer. *Anticancer Res* 2001; 21: 3075-79.
55. Dabholkar M, Bostick – Bruton F, Weber C i wsp. ERCC1 and ERCC2 expression in malignant tissues from ovarian cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1512-17.
56. Spitz MR, Wu X, Wang Y i wsp. Modulation of nucleotide excision repair capacity by XPD polymorphism in lung cancer patients. *Cancer Res* 2001; 61: 1354-57.
57. Humber O, Fiumicino S, Aquilina G i wsp. Mismatch repair and differential sensitivity of mouse and human cells to methylating agents. *Carcinogenesis* 1999; 20: 205-14.
58. Fedier A, Schwarz VA, Walt H i wsp. Resistance to topoisomerase poisons due to loss of DNA mismatch repair. *Int J Cancer* 2001; 93: 571-76.

Otrzymano: 18 maja 2010 r.

Przyjęto do druku: 18 stycznia 2011 r.