

Результаты терапевтического лекарственного мониторинга у пациентов с хроническим миелолейкозом

М.И. Савельева^{1,4}, О.С. Самойлова², И.Н. Самарина³, Н.Е. Кащеева², Н.Н. Еременко⁴

¹ФГБУ «Поликлиника № 3» УД Президента РФ,

²Нижегородская областная клиническая больница им. Семашко,

³МУЗ «Больница скорой медицинской помощи», Дзержинск,

⁴ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

В статье показано, что исследование концентрации иматиниба у 93 пациентов с хроническим миелоидным лейкозом, получающих лечение данным препаратом в рутинной клинической практике за период 2006–2010 гг., может быть дополнительным критерием прогнозирования эффективности терапии. Всем пациентам, участвующим в исследовании проводили цитогенетический анализ костного мозга, а пациентам, достигнувшему полного цитогенетического ответа (ПЦО), – молекулярно-биологические исследования (в соответствии с критериями ELN 2006\2009). Терапевтический лекарственный мониторинг (ТЛМ) проводился методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Общий уровень ПЦО и БМО (большого молекулярного ответа) значительно различались среди данных групп (Q1, Q2-3 и Q4). Различия главным образом заключались в более низкой частоте ответов у пациентов в первом квартале (Q1 vs Q2-Q4: ПЦО, $p=0,005$; БМО, $p=0,008$). Уровень значений концентрации иматиниба в плазме был также значительно выше у пациентов, которые достигли ПЦО ($n=54$), чем у тех, кто не имел ПЦО ($n=15$): 1009 ± 544 vs 812 ± 409 нг/мл соответственно ($p=0,01$). Таким образом, достижение оптимальных значений концентрации иматиниба в плазме крови достоверно улучшает ответ на терапию и, следовательно, приводит к лучшей выживаемости пациентов.

Ключевые слова: хронический миелоидный лейкоз, иматиниб, ингибиторы тирозинкиназы, полный цитогенетический ответ, большой молекулярный ответ, высокоэффективная жидкостная хроматография.

The studies performed have shown that Imatinib concentrations in 93 patients with chronic myeloleukemia, who were prescribed the preparation in the polyclinic unit from 2006 till 2010, may be an additional criterion for prognosing the effectiveness of treatment. All patients who participated in the study had a cytogenic analysis of bone marrow and patients who had a complete cytogenic response (CCR) had a molecular-biologic examination (according to ELN 2006\2009). High-performance liquid chromatography (HPLC) was done to have therapeutic drug monitoring. A common level of CCR and LMR (large molecular response) was considerably different in the discussed groups (Q1, Q2-3 and Q4). This difference lied mostly in lower response frequency in patients in the first quartile (Q1 vs Q2-Q4: CCR, $p=0.005$; LMR, $p=0.008$). Imatinib concentration in plasma was also higher in patients with CCR ($n=54$) that in those who had no CCR ($n=15$): 1009 ± 544 ng/ml vs 812 ± 409 ng/ml, correspondingly ($p=0.01$). Thus, optimal levels of Imatinib concentration in blood plasma reliably improve patients' reaction to the prescribed therapy and consequently lead to better survival in such patients.

Key words: chronic myeloleukemia, Imatinib, tirozinkinase inhibitors, complete cytogenic response, large molecular response, high-performance liquid chromatography.

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) – первое клональное миелолипролиферативное заболевание, при котором была выявлена генетическая поломка, приводящая к его развитию, реципрокная транслокация $t(9;22)(q34;q11.2)$, в результате которой на деривате 22-й хромосомы образуется сливной ген BCR-ABL, продуктом экспрессии которого является аномальный белок bcr-abl p210, обладающий высокой тирозинкиназной активностью [1]. Результаты длительного наблюдения за большой когортой больных ХМЛ свидетельствуют, что за последние 10 лет благодаря внедрению современных методов антитирозинкиназной терапии существенно увеличилась общая выживаемость больных. Шестилетняя общая выживаемость составила 91% для пациентов, начавших лечение ингибиторами тирозинкиназ в ранней хронической фазе. Девятилетняя общая выживаемость составила 78% для больных, начавших лечение ингибиторами тирозинкиназ в поздней хронической фазе [1]. Раннее достижение полного цитогенетического ответа (ПЦО) является основным благоприятным прогностическим фактором, влияющим на результаты долговременной терапии.

Иматиниб является общепринятым стандартом терапии первой линии для пациентов, страдающих хронической фазой ХМЛ, на основании международного рандомизированного исследования IRIS, где сравнивалась

эффективность и безопасность иматиниба с предшествующим стандартом терапии – интерфероном- α в комплексе с цитарабином [7]. У пациентов с хронической фазой ХМЛ наблюдались хорошая переносимость и высокий уровень ПЦО (87% случаев) и большого молекулярного ответа (БМО) (39%) [6]. Последующее 7-летнее наблюдение и анализ результатов исследования показали высокий уровень выживаемости среди пациентов, получающих терапию иматинибом: бессобытийная выживаемость составила 81%, безрецидивная выживаемость – 93% и общая выживаемость – 86% [7].

Однако при высокой эффективности иматиниба у некоторых пациентов с ХМЛ имеют место случаи неудачи терапии или субоптимального ответа на лечение [3]. Внутриклочные механизмы развития резистентности к иматинибу (мутации киназного домена BCR-ABL) установлены. Изменение фармакокинетики препарата – новая причина несоответствующего ответа на терапию иматинибом [8,9,11]. Низкий минимальный уровень концентрации иматиниба в плазме может быть причиной отсутствия и/или сохранения цитогенетического и молекулярного ответов [8,9,11], высокая концентрация препарата может привести к возникновению побочных реакций.

Таким образом, контроль за уровнем плазменной концентрации иматиниба может использоваться в кли-

нической практике для повышения эффективности и безопасности лечения пациентов с ХМЛ.

Целью исследования было повышение эффективности лечения ингибитором тирозинкиназы – иматинибом под контролем его плазменной концентрации у пациентов с ХМЛ в хронической фазе.

Материалы и методы

Исследование было проведено на базе НОКБ им. Семашко (Нижний Новгород) и на базе МУЗ «БСМП» (Дзержинск) в 2006–2010 гг. Проведение настоящего исследования одобрено локальными этическими комитетами, все пациенты были информированы о проведении исследования и выразили свое согласие в письменной форме.

Под наблюдением находились 93 пациента обоего пола (38 мужчин - 40,86 % и 55 женщин - 59,14%) в возрасте от 23 до 80 лет (медиана возраста - 52,43 года) с установленным диагнозом ХМЛ (С 92.1 по МКБ-10), проживающие в Нижегородской области. Диагноз ХМЛ верифицирован цитогенетическим исследованием костного мозга (обнаружением Ph-хромосомы как минимум в 20 метафазах) у 100% пациентов и у ряда пациентов подтвержден выявлением при молекулярно-биологическом исследовании крови патологического транскрипта bcr-abl. Длительность заболевания ХМЛ у исследуемых пациентов составляла от 12 до 189 мес (15 лет). Средняя длительность заболевания на момент исследования составляла 63,93 мес. От момента установления диагноза до назначения иматиниба прошло у разных пациентов от 0 (препарат назначен сразу же после верификации диагноза) до 121 мес. Медиана времени от установления диагноза до начала терапии иматинибом – 15,35 мес. 78 пациентов (83,87%) до начала терапии иматинибом получали другие химиопрепараты – миелосан, гидроксикарбамид, интерфероны, химиотерапию (малые дозы цитозара, протокол «7+3»: цитозар + рубомицин). 15 человек (16,13%) до терапии иматинибом не получали никакого химиотерапевтического лечения.

Всем пациентам, участвующим в исследовании, проводили цитогенетический анализ костного мозга, а пациентам, достигнувшим ПЦО, – молекулярно-биологические исследования (в соответствии с критериями ELN 2006). Исследования проводили в НОКБ им. Н. А. Семашко (Нижний Новгород).

В работе использовали модифицированный метод культивирования клеток костного мозга в течение 20–24 ч [2]. Костный мозг (1–2 мл), полученный у больных при стеральной пункции, помещали в стерильную центрифужную пробирку, содержащую 4 мл среды RPMI1640 с глутамином, дополненной 20% эмбриональной телячьей сыворотки и гепарином из расчета 10 ЕД/мл. После центрифугирования в течение 10 мин при 1000 об/мин удаляли супернатант, осадок ресуспендировали в 5 мл среды RPMI1640 и производили подсчет числа ядерных клеток в 1 мл суспензии (в камере Горяева). В стерильные флаконы для культивирования вносили материал из расчета $(1-2) \cdot 10^6$ клеток на 1 мл среды RPMI1640, дополненной 20% эмбриональной телячьей сыворотки и 800 мкл L-глутамин (при общем объеме культуральной смеси 10 мл). Колхицин вносили во время постановки культуры в конечной концентрации 0,03 мкг на 1 мл полной культуральной среды. Клетки костного мозга культивировали в течение 20–24 ч в термостате при 37°C. Полученный материал переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 10 мин при 1000

об/мин. После удаления надосадочной жидкости клеточную суспензию обрабатывали гипотоническим раствором хлорида калия (0,55%) в течение 35 мин при 37°C. Воздействии гипотонического раствора останавливали внесением 200 мкл 5% уксусной кислоты. После центрифугирования в течение 10 мин при 1000 об/мин материал подвергали 4-кратной фиксации охлажденным фиксатором при температуре 4°C (первая фиксация – 30 мин, далее – по 10 мин). В качестве фиксатора использовали смесь этилового спирта 96° и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1. Полученную суспензию клеток наносили на холодные влажные обезжиренные предметные стекла, которые затем выдерживали 5 мин над кипящей водяной баней и 1 сут в термостате при 65°C. Дифференциальное окрашивание проводили по методу GTG (дифференциальная G-окраска). Для этого стекла обрабатывали 0,25% раствором трипсина. Затем препараты в течение 5 мин окрашивали красителем Гимзы, разведенным на фосфатном буфере (pH 6,8). Препараты анализировали с учетом рекомендаций Международной классификации хромосом (ISCN, 2005). В каждом наблюдении исследовали по возможности 20 метафаз и более. Цитогенетический ответ (ЦО) оценивали по содержанию Ph-положительных клеток в пунктате костного мозга согласно действующим критериям. При этом выделяли ПЦО – 0% Ph-положительных клеток; частичный ЦО – 1–35% Ph-положительных клеток; минимальный ЦО – 36–95% Ph-положительных клеток; отсутствие ЦО – больше 95% Ph-положительных клеток.

Молекулярные исследования проводили с использованием набора реагентов «АмплиСенс® Лейкоз Квант M-bcr-FRT» для выявления и количественного определения мРНК химерного гена bcr-abl (вариант M-bcr) и мРНК гена abl в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени предприятие-изготовитель ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, прибор «iQ5» («Bio-Rad», США).

Всем пациентам после назначения иматиниба одномоментно (2011 г.) проводили исследование по определению концентрации иматиниба в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с детекцией методом тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ/МС/МС). Фармакокинетическое исследование было проведено в лаборатории медицинской генетики ГБОУ ВПО «РостГМУ» Минздравсоцразвития России (Ростов-на-Дону).

Статистическую обработку данных проводили с использованием ПК Pentium IV (операционная система MICROSOFT WINDOWS XP) и пакета прикладных программ Statistica. Сравнение проводилось с использованием метода определения средних значений, сравнение результатов – с применением критерия Стьюдента. Критическое значение уровня значимости принималось равным 5% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

На момент проведения настоящего исследования (2011 г.) ПЦО без БМО был получен у 13 человек (18,57%), БМО – у 42 (60%), у 15 человек (21,42%) пациентов отсутствовал ПЦО. Согласно рекомендациям ELN 2006, 2009, цитогенетический мониторинг проводился через 6 мес терапии, далее 1 раз в 6 мес до достижения ПЦО, далее – 1 раз в 12 мес и молекулярно-биологический мониторинг проводился 1 раз в 3 мес после достижения ПЦО от начала

Таблица 1

Определение ЦГО через 6, 12, 18 мес от начала терапии иматинибом у исследуемых пациентов

Результат	Определение ЦГО			
	через 6 мес	через 12 мес	через 18 мес	через 24 мес
Оптимальные ответы	52 (55,91%)	58 (62,36%)	56 (60,22%)	56 (60,22%)
Субоптимальные ответы	5 (5,38%)	5 (5,38%)	6 (6,45%)	3 (3,22%)
Неудачи в терапии	у 36 (38,71%)	29 (31,26%)	23 (24,73%)	15 (16,13%)
Оценка не проведена (рано)	-	1 (1,08%)	8 (8,6%)	19 (20,43%)

терапии исследуемым препаратом. Изначально всем пациентам иматиниб был назначен в дозе 400 мг (в соответствии с утвержденной инструкцией на препарат). Далее из-за отсутствия должных значений ЦГО к 6, 12, 18 мес терапии дозы препарата были увеличены до 600 или 800 мг (с 2006 г. в соответствии с критериями ELN2006 и с 2010 г. в соответствии с критериями ELN2009).

На момент проведения исследования концентрации иматиниба в сыворотке крови (2011 г.) доза принимаемого препарата составляла 300 мг у 3 человек (3,22%), 400 мг у 50 человек (53,77%), 600 мг у 30 человек (32,25%), 800 мг у 10 человек (10,75%). Состояние расценивалось как удовлетворительное у 68 пациентов (74%), жалоб активно не предъявляли более 80 человек (86,01%) от общего количества пациентов, включенных в исследование. При объективном осмотре во время исследования размеры печени были нормальными у подавляющего числа пациентов (82 человека - 88,17%), в то время как на момент постановки диагноза – лишь у 46 человек (49,46%). Нормализация размеров селезенки - важнейший критерий эффективности терапии пациентов с ХМЛ: на момент исследования нормальные размеры наблюдались у большинства пациентов. Лабораторные показатели гемограммы имели отчетливую положительную динамику: так, анемия различной степени тяжести регистрировалась лишь у 24 (25,81%) пациентов, в то время как в дебюте заболевания – у 47 человек (51,9%). Тромбоцитоза более $600 \cdot 10^9/\text{л}$ на фоне терапии иматинибом не выявлено. Важнейшим и наиболее показательным параметром эффективности терапии уже с первых дней лечения является уровень лейкоцитов периферической крови. На фоне терапии иматинибом уровень лейкоцитов периферической крови нормализовался у подавляющего большинства пациентов, лейкоцитарная формула не содержала незрелых клеток ни у одного из 93 пациентов. Согласно рекомендациям ELN 2006, 2009, цитогенетический и молекулярно-биологический мониторинг проводили через 6, 12, 18 мес от начала терапии иматинибом.

Таким образом, через 6, 12, 18 и 24 мес от начала терапии иматинибом у исследуемых пациентов отмечалась отчетливая положительная тенденция к увеличению доли оптимальных ответов (55,91% - через 6 мес, 62,36% - через 12 мес, 60,22% - через 18 мес) и уменьшению случаев неудачи терапии (38,71% - через 6 мес, 31,26% - через 12 мес, 24,73% - через 18 мес и 16,13% - через 24 мес) по мере пролонгации терапии. Некоторое уменьшение процента оптимального ответа к 24 мес терапии можно объяснить уменьшением общего количества обследованных пациентов на этот период времени (19 пациентов принимали препарат менее 24 мес). Можно ожидать увеличение процента оптимальных ответов за счет оптимальных ответов у этих 19 пациентов при достижении ими длительности лечения 24 мес.

Таким образом, через 12, 18 и 24 мес от начала терапии иматинибом у наблюдавшихся пациентов была отмечена положительная тенденция к увеличению количества и процента полных молекулярных ответов и больших молекулярных ответов по мере пролонгации терапии.

Пациенты, достигшие ПЦО и БМО, принимали одинаковые среднесуточные дозы иматиниба. У 13 пациентов, не имеющих БМО, но достигших к моменту оценки ПЦО,

среднее значение уровня иматиниба в плазме составило 1326 ± 617 нг/мл и было значительно выше, чем у 15 пациентов, не достигших ПЦО (937 ± 476 нг/мл; $p=0,03$). Концентрация иматиниба у 4-х пациентов с БМО и ПЦО была также значительно выше (1457 ± 649 нг/мл), чем у 28 пациентов без БМО (1115 ± 428 нг/мл, $p<0,0001$).

Полученные нами результаты подтверждают, что более высокая плазменная концентрация иматиниба связана с высоким достижением БМО или ПЦО при приеме стандартной дозы иматиниба. Более низкая концентрация в плазме свидетельствует о неэффективности проводимой терапии. Для более детального анализа корреляции ответа на терапию иматинибом в зависимости от уровня Smin пациенты были разделены на четыре квартиля согласно концентрации иматиниба в плазме. Квартиль 1 (Q1) включал в себя пациентов с минимальными значениями концентрации иматиниба (<647 нг/мл, $n=11$), тогда как квартиль 4 (Q4) составляли пациенты с максимальными ее значениями (>2000 нг/мл, $n=7$). Средние два квартиля – 2 (Q2) и 3 (Q3) – соответствовали значениям Smin 647-1170 ($n=32$) и 1170 – 2000 ($n=20$).

Общий уровень ПЦО и БМО значительно различался среди данных групп (Q1, Q2-3 и Q4) (табл. 3). Различия главным образом заключались в более низкой частоте ответов у пациентов в Q1 (Q1 против Q2-Q4: ПЦО, $p=0,005$; БМО, $p=0,008$). Концентрации иматиниба в плазме были также значительно выше у пациентов, которые достигли ПЦО ($n=54$), чем у тех, кто не имел ПЦО ($n=15$): 1009 ± 544 и 812 ± 409 нг/мл соответственно ($p=0,01$).

На основании вышеизложенного можно сделать заключение: при достижении адекватной концентрации има-

Таблица 2

Определение БМО через 6, 12, 18 мес от начала терапии иматинибом у исследуемых пациентов

Результат	Определение БМО		
	через 12 мес	через 18 мес	через 24 мес
Полные молекулярные ответы	17 (18,28%)	27 (29,03%)	29 (31,18%)
БМО	16 (17,2%)	20 (21,5%)	18 (19,35%)
Нет ответа	53 (56,99%)	37 (39,78%)	27 (29,03%)
Оценка не проведена (рано)	7 (7,53%)	9 (9,68%)	19 (20,43%)

Таблица 3

Квартили пациентов в зависимости от концентрации иматиниба в плазме

Квартиль	Уровень концентрации, нг/мл	Количество пациентов			
		ПЦО(+)	ПЦО(-)	БМО(+)	БМО(-)
Квартиль 1 (Q ₁)	Менее 647 (n=11)	6 (54,5%)	5 (45,5%)	4 (36,4%)	7 (63,6%)
Квартиль 2 (Q ₂)	647-1170 (n=32)	29 (90,6%)	3 (9,4%)	26 (81,25%)	6 (18,75%)
Квартиль 3 (Q ₃)	1170-2000 (n=20)	13 (65,0%)	7 (35,0%)	10 (50%)	10 (50%)
Квартиль 4 (Q ₄)	Более 2000 (n=7)	7 (100%)	-	2 (28,6%)	5 (71,42%)

механизмов резистентности к иматинибу, не связанных с фармакокинетикой и фармакодинамикой препарата. Эскалация дозы иматиниба у этих пациентов не решит проблему резистентности. В таких случаях необходимо рассматривать возможность проведения исследования мутационного статуса, наличия клональной эволюции, что объясняет следующий шаг в ходе лечения ХМЛ – перевод пациентов на вторую линию терапии ингибиторами тирозинкиназы 2-го поколения.

тиниба в плазме не менее 1000 нг/мл и поддержании ее в течение всего периода лечения пациенты могут достигнуть удовлетворительного ответа.

По данным литературы, границы «терапевтического окна» концентрации иматиниба не были точно определены. По данным европейских исследований S. Picard и соавт. [10], остаточная концентрация иматиниба в плазме >1002 нг/мл ассоциируется с достижением ПЦО. Также R.A. Larson и соавт. [5] в исследовании IRIS (фаза III) сообщили, что средняя остаточная концентрация иматиниба у пациентов, которые достигли ПЦО, составила 1009 нг/мл. На основе имеющихся данных ученые предположили, что поддержание плазменной концентрации иматиниба на уровне или выше средней популяционной концентрации 1000 нг/мл способствует достижению лучших результатов ПЦО и БМО.

Однако следует отметить, что если у одних пациентов концентрация 1000 нг/мл или выше была достигнута и поддерживалась на оптимальном уровне при использовании стандартной дозы иматиниба 400 мг/сут, то у других для достижения данного значения концентрации может потребоваться повышение дозы до 600 или 800 мг/сут. В связи с отсутствием оптимального ответа на терапию при низкой остаточной концентрации иматиниба в плазме было принято решение о повышении дозы иматиниба с 400 до 600 мг/сут с последующим проведением цитогенетического исследования и определением уровня патологического гена Bcr-Abl. Через 3-6 мес эскалации дозы повторно было проведено определение концентрации иматиниба в плазме крови, цитогенетическое исследование костного мозга, а у пациентов с Ph-0% и молекулярное исследование. В 100% случаев отмечено улучшение цитогенетических и молекулярно-биологических результатов после увеличения плазменной концентрации иматиниба.

В конечном счете, трудно установить фиксированные границы «терапевтического интервала» концентрации, поскольку, по нашим наблюдениям, у некоторых пациентов был получен хороший клинический ответ при остаточной концентрации иматиниба в крови ниже 1000 нг/мл, тогда как другие плохо отвечали на терапию, несмотря на концентрацию выше 1000 нг/мл. Вероятно, такие факторы, как индивидуальные изменения концентрации с течением времени, взаимодействия с другими лекарственными препаратами, эффект изменения дозы и прерывания лечения, оказывают влияние на конечный результат терапии. Возможно, это свидетельствует о возрастании значения других

Литература

1. Виноградова О.Ю. Клиническая эволюция хронического миелолейкоза в процессе лечения ингибиторами тирозинкиназ: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2011. 45 с.
2. Мартынкевич И.С., Мартыненко Л.С., Иванова М.П. и др. Дополнительные хромосомные aberrации у больных хроническим миелолейкозом // Гематол. и трансфузиол. – 2007. – т.52, №2. – С. 28-35.
3. Baccarani M., Saglio G., Goldman J. et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2006; 108(6): 1809-1820.
4. ISCN: International System Human Cytogenetic Nomenclature (2005). Eds. Lisa G. Shaffer, Niels Tommarup. 2005.; Kantarjian H., Sawyers C., Hochhaus A. et al. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia // *N Engl J Med*. 2002 Feb 28;346(9):645-52.
5. Larson R.A., Druker B.J., Guilhot F. et al. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study. *Blood*. 2008;111(8):4022-4028.
6. O'Brien S.G., Guilhot F., Larson R.A. et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2003;348(11):994-1004.
7. O'Brien S.G., Guilhot F., Goldman J.M. et al. International Randomized Study of Interferon Versus STI571 (IRIS) 7-year follow-up: sustained survival, low rate of transformation and increased rate of major molecular response (MMR) in patients (pts) with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with imatinib (IM). *Blood*. 2008;112(11):76.
8. Peng B., Hayes M., Resta D. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of imatinib in a phase I trial with chronic myeloid leukemia patients. *J Clin Oncol*. 2004;22(5):935-942.
9. Peng B., Lloyd P., Schran H. Clinical pharmacokinetics of imatinib. *Clin Pharmacokinet*. 2005;44(9):879-894.
10. Picard S., Titier K., Etienne G. et al. Trough imatinib plasma levels are associated with both cytogenetic and molecular are sponses to standard- dose imatinib in chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2007;109(8):3496-3499.
11. Wilkinson G.R. Drug metabolism and variability among patients in drug response. *N Engl J Med*. 2005;352(21):2211-2221.