

ARTIGO ORIGINAL

# Estudo de polimorfismos do gene UGT1A1 e associação com reações adversas ao irinotecano: um estudo piloto

*Study of UGT1A1 gene polymorphisms and association with the adverse effects irinotecan: a pilot study*

Michelle Fraga Eisenhardt<sup>1</sup>; Marcelo Luis Dotto<sup>2</sup>; Catia Severo<sup>3</sup>; Juliana Jornada Fontella<sup>3</sup>; Camila Peraça<sup>1</sup>; Andreia Rosane de MouraValim<sup>4</sup>; Lia Gonçalves Possuelo<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica do Curso de Farmácia – UNISC, Santa Cruz, RS.

<sup>2</sup> Médico. Oncologista – Centro de Oncologia Integrado Hospital Ana Nery.

<sup>3</sup> Enfermeira. Centro de Oncologia Integrado do Hospital Ana Nery.

<sup>4</sup> Doutora. Professora Pesquisadora – Departamento de Biologia e Farmácia – UNISC, Santa Cruz, RS.

## ➤ PALAVRAS-CHAVE

irinotecano, UGT1A1, reações adversas.

effectiveness.

## ➤ KEY WORDS

Irinotecan, UGT1A1,

## ■ RESUMO

**Introdução:** O tratamento para o câncer colorretal metastático mudou significativamente nas últimas décadas com a introdução de novos agentes como o irinotecano e a oxaliplatina. A menor expressão da enzima UGT1A1, causada por inserções timina-adenina na região promotora TATA, tem sido associada a ocorrência de reações adversas ao irinotecano que acabam por limitar sua utilização. **Objetivo:** Verificar a ocorrência de polimorfismos na região promotora do gene UGT1A1 e associar a presença destes com o desenvolvimento de efeitos adversos ao medicamento irinotecano em pacientes portadores de câncer colorretal atendidos em um centro especializado em oncologia no Rio Grande do Sul. **Método:** Foram incluídos no estudo 11 pacientes que estavam em uso de irinotecano no período analisado. Foram coletadas amostras de sangue para extração de DNA e genotipagem do gene UGT1A1 por PCR-SSCP e sequenciamento. Dados clínicos e epidemiológicos foram também avaliados. **Resultados:** A média de idade dos pacientes foi 58,6 anos. A frequência do alelo UGT1A1\*28 (TA 07/07) nos pacientes estudados foi de 90,9%. Destes, 80% apresentaram algum tipo de efeito adverso durante o tratamento com irinotecano. As reações adversas foram: diarreia (60%), neutropenia (20%) e plaquetopenia (20%). **Conclusão:** Os achados deste estudo demonstraram um elevado percentual do genótipo UGT1A1\*28 na população estudada, o que difere dos demais estudos relatados na literatura. A alta frequência das reações adversas ao irinotecano nos pacientes portadores do genótipo UGT1A1\*28 relatadas neste estudo e em outros, sugere que a análise de polimorfismos do gene UGT1A1 poderia ser uma ferramenta útil para prever a toxicidade a este medicamento sem comprometer sua eficácia.

## ■ ABSTRACT

**Introduction:** Treatment for metastatic colorectal cancer has changed significantly in recent decades with the introduction of new agents such as irinotecan and oxaliplatin. The lower expression of UGT1A1 enzyme, caused by thymine-adenine insertions in the TATA promoter region, has been associated with adverse effects to irinotecan, which ultimately limit its use. **Objective:** Verify the occurrence of polymorphisms in the promoter region of the UGT1A1 gene and to associate them with the presence of adverse reactions to irinotecan in patients

➤ RECEBIDO: 12/09/2011 | ACEITO: 08/03/2012

with colorectal cancer treated in a specialized center in Rio Grande do Sul. **Methods:** The study included 11 patients treated with irinotecan in the studied period. Blood samples were collected for DNA extraction and genotyping of the UGT1A1 gene by PCR-SSCP and direct sequencing. Clinical and epidemiological data were also evaluated. **Results:** The mean age was 58.6 years. The allele frequency of UGT1A1\*28 (TA 07/07) in the studied patients was 90.9%. Of these, 80% had some type of adverse effect during treatment with irinotecan. Adverse effects were diarrhea (60%), neutropenia (20%) and thrombocytopenia (20%). **Conclusion:** The findings showed a high percentage of the UGT1A1\*28 genotype in the studied population, which differs from other studies reported in the literature. The high frequency of adverse effects to irinotecan in patients with the UGT1A1\*28 genotype reported in this study and in others, suggests that the analysis of polymorphisms of the UGT1A1 gene could be a useful tool to predict this drug toxicity, without affecting its

adverse reactions.

#### ■ INTRODUÇÃO

A quimioterapia sistêmica para o câncer colorretal metastático (CCRm) mudou significativamente nas últimas décadas. O irinotecano, derivado semi-sintético do alcaloide de planta camptotecina, foi aprovado para o tratamento de vários tipos de cânceres gastrointestinais incluindo estômago e cólon, sendo frequentemente utilizado no tratamento do CCRm.<sup>1</sup> O irinotecano trata-se de um inibidor de topoisomerase I, enzima esta envolvida na replicação do DNA. A topoisomerase I age aliviando o estresse de torção que se desenvolve durante a replicação do DNA através da indução de quebras na fita simples.<sup>3</sup> A combinação de irinotecano com as drogas ácido folínico, 5-fluorouracil (5-FU) na presença ou não dos anticorpos monoclonais, bevacizumabe (anticorpo anti-VEGF) ou cetuximabe (anticorpo anti-EGFR) são atualmente utilizadas como quimioterapia de primeira linha.<sup>3,4</sup>

A eficácia terapêutica do irinotecano pode ser comprometida pelas reações adversas ao medicamento (RAM), neutropenia grave e diarréia severa que acabam por limitar a sua utilização.<sup>7,8</sup> Estudos têm relacionado estas RAM à menor expressão da enzima UDP-glicuronosiltransferases (UGT) mais especificamente à isoforma UGT1A1. Esta enzima é responsável pela degradação do composto ativo SN-38 (Figura 1), o que resulta em degradação diminuída deste, e como consequência maior biodisponibilidade deste composto, e, assim, uma maior exposição dos tecidos normais e malignos a este metabólito aumentando o risco de toxicidade.<sup>8,9</sup>

A atividade da enzima UGT1A1 depende do número de repetições timina-adenina (TA) na região promotora TATA box do gene UGT1A1. Inserções ou deleções nesta região

#### ■ ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Lia Gonçalves Possuelo. Av. Independência, 2293, Bloco 35, sala 3504 - 96815-900 - Santa Cruz do Sul, RS - Brasil - E-mail: liapossuelo@unisc.br

do gene resultam em repetições de TA, que diferem das seis repetições presentes no alelo tipo selvagem.<sup>10,11</sup> A menor transcrição da enzima UGT1A1 está associada a sete repetições neste alelo resultando na variante denominada UGT1A1\*28. Pacientes heterozigotos ou homozigotos para este alelo são, teoricamente, predispostos a desenvolver diarréia e neutropenia induzida pelo SN-38.<sup>11-13</sup> Com base nestes resultados, a *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos aprovou uma revisão do protocolo para o irinotecano recomendando uma redução da dose inicial para pacientes que apresentassem a variante UGT1A1\*28.<sup>14</sup> Dessa forma, o presente estudo teve por objetivo, verificar a ocorrência de polimorfismos na região promotora do gene UGT1A1 e associar a presença destes com o desenvolvimento de RAM ao irinotecano em pacientes portadores de CCR atendidos em um centro especializado em oncologia no Rio Grande do Sul.

#### ■ MATERIAIS E MÉTODOS

##### DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo transversal prospectivo incluindo pacientes portadores de CCR tratados no Centro de Oncologia Integrado (COI) do Hospital Ana Nery da cidade de Santa Cruz do Sul no período de 2006 a 2011.

##### SELEÇÃO DOS PACIENTES

Através de revisões dos prontuários médicos dos pacientes portadores de CCR, confirmados por biópsia, com idade superior a 18 anos, foram selecionados para este estudo todos os pacientes que estavam em uso do quimioterápico irinotecano entre outubro de 2010 e abril de 2011.

Durante a revisão dos prontuários médicos, dados clínicos e epidemiológicos foram avaliados e transcritos para uma ficha de coleta de dados previamente elaborada. Entre os dados epidemiológicos, foram analisados idade, sexo, profissão, estado civil e cor da pele. Como dados clínicos avaliados estavam elencados estágio de desenvolvimento da doença, sítio primário

da doença, metástases no diagnóstico, invasão linfonodal, esquema quimioterápico no primotratamento, efeitos adversos e resposta terapêutica.

#### CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) (2523/10). Todos os pacientes recrutados para o presente estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido atendendo aos preceitos éticos previstos na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

#### GENOTIPAGEM DE UGT1A1

Para padronização da metodologia foi realizada a genotipagem de 4 amostras de DNA de doadores saudáveis e anônimos. A idade média dos voluntários foi de 59 anos e 2 (50%) pacientes eram do sexo masculino.

O DNA genômico foi extraído a partir de 0,5 mL de sangue periférico pelo método *salting out* como descrito por MILLER, DYKES, POLESKY, (1988).<sup>15</sup> Para analisar o polimorfismo na região promotora do gene UGT1A1, um produto de amplificação foi gerado pela reação em cadeia da polimerase (PCR) para posterior realização de SSCP (*single-strand conformation polymorphism analysis*) e sequenciamento automático. As sequências de *primers forward* e *reverse* utilizados foram 5' TGA AAT TCC AGC C AG TTC AA '3 e 5' GTA GGA GAG GGC GAA CCT CT '3 respectivamente.<sup>16</sup> A reação de PCR foi padronizada contendo 10 mM Tris-Cl (pH 8,3), KCl 50 mM, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,25 mM de cada dNTP, 1,5U de Taq DNA polimerase, 0,2 pmol de cada primer e 100 ng de DNA em um volume final de 50 µL. A amplificação foi realizada em um termociclador da marca PCR Express (Thermo-Hybrid) e as condições da reação foram as seguintes: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguidos por 35 ciclos que consistem em desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 56°C por 1 minuto e extensão a 72°C por um minuto seguido por um ciclo de extensão final a 72°C por 5 minutos.

Foi realizada eletroforese em gel de agarose 1,5% e visualização sob luz ultravioleta para identificação do fragmento de 203 bp (Figura 2-A). Os produtos da PCR foram purificados com colunas GFX® (GE Healthcare). E finalmente, os produtos da PCR purificados foram sequenciados em um sequenciador automático da marca MegaBACE 100 DNA Analysis System (Molecular Dynamics, Sunnyvale), conforme instruções do fabricante, para determinar o número de repetições TA na região promotora do gene UGT1A1 (Figura 2-B). As sequências obtidas foram comparadas com a sequência referência AF352795.1.

O SSCP foi realizado utilizando 3 µL do produto da PCR

**TABELA 1.** Características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com CCR tratados com irinotecano

Característica	N=11 (%)
<b>Gênero</b>	
Masculino	4 (36,4)
Feminino	7 (63,3)
<b>Sítio do tumor primário</b>	
Reto	4 (36,4)
Colón	7 (63,3)
<b>Estádio TNM*</b>	
III	1 (9,1)
IV	9 (81,8)
<b>Patologia*</b>	
Moderadamente diferenciado	8 (72,7)
Bem diferenciado	1 (9,1)
<b>Tratamento quimioterápico**</b>	
IFL	9 (81,8)
FOLFIRI	2 (18,2)
<b>Dose Irinotecano</b>	
>150 mg/m <sup>2</sup>	10 (90,9)
<150 mg/m <sup>2</sup>	1 (9,1)
<b>RAM</b>	
Sim	10 (90,9)
Não	1 (9,1)
<b>Óbito</b>	
Sim	2 (18,2)
Não	9(81,8)

\*a diferença dos percentuais se deve ao número de casos sem informação disponível no prontuário.

\*\*IFL: (irinotecano, 5-FU (*bolus*) e ácido folínico); FOLFIRI: (irinotecano, 5-FU (infusão em *bolus* e contínua) e ácido folínico).

purificado misturado com 3 µL de tampão desnaturante (95% formamida, 0,05% xileno cianol, 0,05% azul de bromoferol, 20 mM de NaOH e 20 de mM EDTA). A mistura foi aquecida a 95°C por 10 minutos, e imediatamente transferida para o banho de gelo por 2 minutos. O volume total foi aplicado em um gel de poliacrilamida a 12%. A eletroforese foi realizada em uma temperatura de 14°C a uma potência constante de 200 V por 2 horas. Após a eletroforese, os padrões de SSCP foram visualizados através da coloração de nitrato de prata (Figura 2-C).

#### AValiação DA TOXICIDADE AO IRINOTECANO

As RAM foram graduadas de acordo com os Critérios para Terminologia Comum de Efeitos Adversos do Instituto Nacional do Câncer (NCI-CTACE) 3.0. As toxicidades como náuseas e vômitos não foram incluídas neste estudo.

#### Análise estatística

**Tabela 2.** Relação das RAM com o genótipo UGT1A1\*28 em diferentes populações

Referência	População	Etnia	UGT1A1*28	
			TA (07/07) ou TA(07/06)	RAM
MARCUELLO <sup>17</sup>	95	caucasianos	55 (58%)	Diarreia
INNOCENTI <sup>13</sup>	65	--	31(47,7%)	Neutropenia/diarreia
ANDO <sup>12</sup>	118	japoneses	25(21,2%)	Leucopenia/diarreia
ROUITS <sup>23</sup>	72	caucasianos	42(54%)	Diarreia/neutropenia
SHULZ <sup>19</sup>	103	caucasianos	62(60%)	Diarreia

Os dados clínicos e epidemiológicos foram arquivados e analisados em um banco de dados criado no software SPSS (Chicago, IL) *ver.* 18.0. Estatísticas descritivas e comparações univariadas foram realizadas.

## ■ RESULTADOS

### CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES

Um total de 11 pacientes que preenchiam os critérios de inclusão foram estudados. Destes, 5 (45,5%) pacientes eram oriundos da cidade de Santa Cruz do Sul. A média de idade dos pacientes foi de 58,6 anos ( $\pm$  12,8), sendo 63,3% mulheres (Tabela 1). Todos os pacientes eram de origem caucasiana. Os esquemas terapêuticos contendo irinotecano foram utilizados pela maioria (45,5%) dos pacientes como tratamento de segunda linha. O uso do quimioterápico irinotecano se restringiu a pacientes que estavam em um estágio mais avançado da doença (III e IV). Doses de irinotecano superiores a 150 mg/m<sup>2</sup> foram utilizadas por 10 (90,1%) pacientes.

### GENOTIPAGEM UGT1A1 E TOXICIDADE.

A frequência alélica do alelo UGT1A1\*28 no grupo de pacientes analisados foi de 90,9% sendo todos homocigotos (TA 07/07). Além deste genótipo um paciente apresentou o alelo UGT1A1\*37 (TA 08/08).

A frequência das RAM nos pacientes portadores do alelo UGT1A1\*28 foi de 80%. As RAM severas (grau III e IV) relatadas foram: diarreia (60%), neutropenia (20%) e trombocitopenia (20%). Um paciente portador do alelo UGT1A1\*28 teve seu tratamento com irinotecano interrompido devido à toxicidade. A única RAM relatada pelo paciente portador do genótipo UGT1A1\*37 foi diarreia.

## ■ DISCUSSÃO

A análise de polimorfismos do gene UGT1A1 é considerada por vários autores como um fator preditivo para a toxicidade ao irinotecano. Sendo o alelo UGT1A1\*28 o polimorfismo mais frequente no gene UGT1A1 em populações caucasianas, variando sua frequência de 0,290 a 0,387.<sup>13,17,18</sup> A frequência deste genótipo no presente estudo (0,909) não é comparável à descrita por outros au-

tores visto que a frequência encontrada foi superior as já relatadas para outras populações caucasianas. Sabe-se que a frequência do alelo UGT1A1\*28 varia de acordo com a origem étnica e racial: na população caucasiana, cerca de 50% possuem o genótipo TA06/06, 40% TA06/07, e 10% possuem o genótipo TA07/07. A proporção da variante TA07/07 também é de cerca de 10% em indivíduos de origem africana, na população de origem asiática esses números caem para menos da metade.<sup>19</sup> Outro estudo realizado recentemente por Nikolas e colaboradores (2008) na Croácia envolvendo 1109 pacientes com suspeita de síndrome de Gilbert revelou uma frequência bastante alta (54,1%) de pacientes caucasianos homocigotos para o alelo UGT1A1\*28.<sup>20</sup> A alta frequência do alelo UGT1A1\*28 revelada pelo presente estudo foi de fato surpreendente. Este é o primeiro estudo a relatar frequência alélica tão elevada de UGT1A1\*28 em população caucasiana de descendência alemã. Não foi observado nenhum indício de isolamento cultural ou geográfico. Entretanto, existe a necessidade de que novos estudos sejam realizados incluindo um número maior de pacientes e controles para confirmar estes achados além de uma avaliação.

O presente estudo está de acordo com uma análise retrospectiva realizada por Ando *et al.* (2000) em que o alelo UGT1A1\*28 foi relacionado com a toxicidade severa ao irinotecano.<sup>12</sup> Os pacientes do presente estudo portadores do genótipo UGT1A1\*28 manifestaram diarreia, neutropenia ou trombocitopenia em algum momento do tratamento em graus III ou IV o que é compatível com o já descrito por outros autores.<sup>11,12,17,18,21</sup> A relação das RAM com o genótipo UGT1A1\*28 relatada por outros autores esta apresentada na tabela 2.

Recentemente, Hoskins *et al.* (2007) sugeriu em sua meta-análise que o aumento da toxicidade hematológica é visto quando há o polimorfismo associado a doses mais elevadas de irinotecano (>150 mg/m<sup>2</sup>).<sup>22</sup> No presente estudo apenas 1 paciente portador do genótipo UGT1A1\*28 recebeu doses inferiores a 150 mg/m<sup>2</sup> e este não relatou nenhum RAM, porém este achado é inconsistente pois não temos dados suficientes para garantir esta relação, visto que no decorrer do tratamento a dose deste paciente pode ter sido ajustada e RAM podem não ter sido registradas

nos prontuários médicos.

Com relação ao genótipo UGT1A1\*37 os dados da literatura são escassos, mas sabe-se que a transcrição da enzima parece variar inversamente com o número de repetições TA.<sup>23</sup> Assim, o alelo UGT1A1\*37 produz níveis mais baixos da enzima, até mesmo menor que a variante UGT1A1\*28 o que teria por consequência maiores RAM, o que não foi observado no presente estudo.

Diversos autores sugerem que a determinação do genótipo UGT1A1 pode ser clinicamente útil para prever a toxicidade severa por irinotecano.<sup>12,24</sup> No entanto devido as características genotípicas singulares dos pacientes estudados, as comparações entre os perfis de toxicidade dos pacientes portadores do alelo tipo selvagem e aqueles portadores dos alelos mutados não foram possíveis. Através dos resultados deste estudo não foi possível inferir que uma inserção TA na região promotora TATA do gene UGT1A1 pode estar significativamente associada com uma maior susceptibilidade a ocorrência de RAM ao quimioterápico irinotecano na população estudada. Dessa forma, se faz necessária a realização de novos estudos, incluindo um número maior de pacientes da mesma origem étnica para confirmar esses achados.

#### ■ AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Martin Cancela, Dr. Arnaldo Zaha e ao Ms. Guilherme Santos do Laboratório de Biologia Molecular de Cestódeos da UFRGS e também a Helen da Rosa Bolsista do Laboratório de Genética Biotecnologia da UNISC por terem contribuído na realização dos experimentos práticos. À FAPERGS pelo suporte financeiro.

#### ■ DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Nada a Declarar.

#### ■ REFERENCIAS

- Shimoyama S. Pharmacogenetics of irinotecan: An ethnicity-based prediction of irinotecan adverse events. *World J Gastrointest Surg* 2010; 2(1):14-21.
- Fuch C, Hoff P, Mitchell E. Irinotecan in the treatment of colorectal cancer. *Cancer Treatment Reviews* 2006; 32:491- 503.
- Ishii Y, Hasegawa H, Endo T, Okabayashi K, Ochiai H, Moritani K, et al. Medium-term results of neoadjuvant systemic chemotherapy using irinotecan, 5-fluorouracil, and leucovorin in patients with locally advanced rectal cancer. *EJSO* 2010; 36:161-65.
- Weikersthal LF, Schalhorn A, Stauch M, Quietzsch D, Maubach PA, Lambert H, et al. Phase III trial of irinotecan plus infusional 5-fluorouracil/folinic acid versus irinotecan plus oxaliplatin as first-line treatment of advanced colorectal cancer. *European Journal of Cancer* 2011; 47:206-14.
- Figg WD, Smith NF, Sparreboom A. Pharmacogenetics of irinotecan metabolism and transport: An update. *Toxicology in Vitro* 2006; 20:163-75.
- Branco CC, Pacheco PR, Brilhante MJ, Ballart C, Sigala TF, Polena H, et al. UGT1A1, UGT1A6 and UGT1A7 Genetic Analysis Repercussion for Irinotecan Pharmacogenetics in the São Miguel Island Population (Azores, Portugal). *Mol Diagn Ther* 2009; 13(4):261-68.
- Grant DJ, Hall IJ, Eastmond DA, Jones IM, Bell DA. Bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) gene promoter polymorphisms and HPRT, glycophorin A, and micronuclei mutant frequencies in human blood. *Mutation Research* 2004; 560:1-10.
- Lenz HJ. Pharmacogenomics and colorectal cancer. *Annals of Oncology* 2004; 15:173-77.
- Shulman K, Cohen I, Barnett-Griness O, Kuten A, Gruber SB, Lejbkowitz F, et al. Clinical Implications of UGT1A1\*28 Genotype Testing in Colorectal Cancer Patients. *Cancer* 2011; 1-7.
- Ando Y, Saka H, Ando M, Sawa T, Muro K, Hiroshi H, et al. Polymorphisms of the UDP-glucuronosyltransferase gene and irinotecan toxicity: a pharmacogenetic analysis. *Cancer Res* 2000; 60:6921-29.
- Innocenti F, Undevia SD, Iyer L, Chen PX, Das S, Kocherginsky M, et al. Genetic variants in the UDPglucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. *J. Clin. Oncol* 2004; 22:1382-88.
- Saeki M, Sai K, Saito Y, Sakamoto H, Shirao K, Kurose K, et al. Importance of UDP-glucuronosyltransferase 1A1\*6 for irinotecan toxicities in Japanese cancer patients. *Cancer Letters* 2008; 261:165-71.
- Miller AS, Dykes DD, Polesky HF, A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16(3):1215.
- Ostaneck B, Furlan D, Mavec T, Lukac-Bajalo J. UGT1A1(TA)<sub>n</sub> promoter polymorphism: A new case of a (TA)<sub>8</sub> allele in Caucasians. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 2007; 38: 78-82.
- Marcuello E, Altes A, Menoy OA, Rio E, Gomez-Pardo M, Baiget M. UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *British Journal of Cancer* 2004; 91:678-82.
- Beutler E, Demina A, Gelbart T. Racial variability in the UDP glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: a balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism? *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95:8170-74.
- Kane D, Schimnch AA, Snozek CLH. Pharmacogenomics of Tamoxifen and Irinotecan Therapies. *Clin Lab Med* 2008;28:553-67.
- Nikolac N, Simundic AM, Topic E, Jurcic Z, Stefanovic M, Dumic J, et al. Rare TA repeats in promoter TATA box of the UDP glucuronosyltransferase (UGT1A1) gene in Croatian subjects. *Clin Chem Lab Med* 2008;46(2):174-8.
- Schulz C, Heinemann V, Schalhorn A, Moosmann N, Zwingers , Boeck S, et al. UGT1A1 gene polymorphism: Impact on toxicity and efficacy of irinotecanbased regimens in metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2009; 15(40):5058-66.
- Hoskins JM, Goldberg RM, QU P, Ibrahim JG, McLeod HL. UGT1A1\*28 Genotype and Irinotecan-Induced Neutropenia: Dose Matters. *JNC* 2007; 99:1290-5.
- O'Dwyer PJ, Catalano RB. Uridine diphosphate glucuronosyltransferase (UGT) 1A1 and irinotecan: practical pharmacogenomics arrives in cancer therapy. *J Clin Oncol* 2006; 24(28): 4534-8.
- Rouits E, Charasson V, Petain A, Boisdron-Celle M, Delord JP, Fonck M, et al. Pharmacokinetic and pharmacogenetic determinants of the activity and toxicity of irinotecan in metastatic colorectal cancer patients. *British Journal of Cancer* 2008; 99:1239-45.