

Κεφάλαιο 39

In vitro έλεγχος ευαισθησίας στα κυτταροτοξικά φάρμακα

Ε. Μπριασούλης

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο διαρκώς αυξανόμενος αριθμός διαθέσιμων χημειοθεραπευτικών φαρμάκων την τελευταία δεκαετία, προβάλλει ισχυρά το θέμα ύπαρξης και εφαρμογής κριτηρίων επιλογής για εξατομίκευση της θεραπείας κατά περίπτωση ασθενούς¹. Η επιλογή μεταξύ ισοδύναμων χημειοθεραπευτικών συνδυασμών αποτελεί πλέον ένα σημαντικό κλινικό ερώτημα που φέρει συχνά σε αμηχανία τον κλινικό ογκολόγο σε περιπτώσεις ασθενών με μεταστατικούς συμπαγείς όγκους υψηλού πληθυσμιακού επιπολασμού όπως είναι οι καρκίνοι του πνεύμονα, μαστού και εντέρου^{2,5}.

Γενικά

Οι *in vitro* δοκιμασίες ελέγχου ευαισθησίας - αντίστασης στη κυτταροτοξική χημειοθεραπεία (CSRAs) αναπτύχθηκαν την δεκαετία του '90 στην προσπάθεια εξατομικευμένης ορθολογικής διαχείρισης της χημειοθεραπείας. Οι δοκιμασίες αυτές στοχεύουν στο να ελέγξουν εάν καρκινικά κύτταρα από ιστικό δείγμα όγκου ενός ασθενούς με καρκίνο εκδηλώνουν ή όχι αναστολή πολλαπλασιασμού ή απόπτωση, όταν εκτίθεται σε συγκεκριμένα χημειοθεραπευτικά φάρμακα σε συνθήκες εργαστηρίου^{6,7}.

Η εφαρμοζόμενη στην κλινική πράξη συστηματική θεραπευτική αγωγή κατά

του καρκίνου με την χορήγηση συνδυασμών χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, είναι κατά σύμβαση εμπειρική και βασίζεται σε αποτελέσματα καλά σχεδιασμένων κλινικών μελετών οι οποίες έχουν τεκμηριώσει κατά αναφοράν όγκου και κλινικού σταδίου νόσου, σαφές κλινικό όφελος⁸. Εξ αναγωγής τεκμαίρεται και η πιθανότητα κλινικής ωφέλειας της συμβατικής θεραπείας κατά περίπτωση ασθενούς.

Σήμερα, οι αποφάσεις θεραπευτικού σχεδιασμού βασίζονται στην εκτίμηση κλινικών παραμέτρων όπως ο ιστολογικός τύπος, το στάδιο, προγνωστικοί παράγοντες, ιστορικό προηγηθεισών θεραπειών, και ενδεχόμενα ορισμένα μοριαβιολογικά χαρακτηριστικά των όγκων, και καθοδηγούνται από κατευθυντήριες οδηγίες διεθνών επιστημονικών σωμάτων και οργανισμών (PDQ, ESMO, NCCN).

Η κατευθυνόμενη απο δοκιμασίες ελέγχου ευαισθησίας ή αντοχής χημειοθεραπεία, αποτελεί εναλλακτική ορθολογική πρόταση έναντι της συμβατικής χημειοθεραπείας. Βασίζεται στην λογική της χορήγησης χημειοθεραπευτικής αγωγής τεκμηριωμένης *in vitro* δραστηριότητας η οποία σε θεωρητική βάση έχει αυξημένες πιθανότητες αποτελεσματικότητας. Θετική απάντηση της δοκιμασίας σε συγκεκριμένο φάρμακο ταξινομεί τον όγκο ως «ευαίσθητο» στο συγκεκριμένο χημειοθεραπευτικό παράγοντα

ενώ απουσία κυτταρικής απάντησης ως «ανθεκτικό». Υπάρχει επίσης ο χαρακτηρισμός ως «διάμεσης ευαισθησίας». Σε θεωρητική βάση, θετική δοκιμασία σε ένα φάρμακο υποδηλεί δυνητικό όφελος από την κλινική του εφαρμογή και δικαιολογεί την χρήση του στην θεραπεία του ασθενούς με τον συγκεκριμένο όγκο. Αντίθετα, αρνητική δοκιμασία χαρακτηρίζει τον όγκο ως ανθεκτικό στο δοκιμασθέν φάρμακο το οποίο θα πρέπει να εξαιρεθεί και από το θεραπευτικό σχήμα ως πιθανά ατελέσφορο⁹.

Η θεραπευτική αγωγή που θα επιλεγεί βάσει των αποτελεσμάτων *in vitro* δοκιμασιών θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει συνδυασμό φαρμάκων που τεκμηριώσαν *in vitro* δραστικότητα (IVBR, *in vitro* best regimen). Ελπίζεται ότι *in vitro* έλεγχος χημειοευαισθησίας των όγκων θα μπορούσε να αξιοποιηθεί ως επιπρόσθετη πληροφορία σε θεραπείες καθοδηγούμενες από κατευθυντήριες θεραπευτικές οδηγίες επιστημονικών οργανισμών (NCI, EORTC).

Μέθοδοι

Ποικίλες δοκιμασίες ελέγχου ευαισθησίας στα κυτταροτοξικά φάρμακα έχουν ιστορικά αναπτυχθεί, δοκιμασθεί και εφαρμοσθεί. Οι διάφοροι μέθοδοι έχουν σημαντικές τεχνικές διαφορές μεταξύ των αλλά και κάποια βήματα που είναι κοινά σε όλες. Αυτά είναι⁶:

1. η λήψη βιοπτικού δείγματος του όγκου,
2. η επεξεργασία και απομόνωση νεοπλασματικών κυττάρων,
3. η επώαση των κυττάρων με και χωρίς συγκεκριμένο χημειοθεραπευτικό,
4. η αξιολόγηση του κυτταρικού θανάτου ή της επιβίωσης των κυττάρων.

Υπάρχει αριθμός δημοσιευμένων μελετών που αφορούν σε χημειοθεραπείες

καθοδηγούμενες από *in vitro* αξιολόγηση της αντινεοπλασματικής δραστικότητας φαρμάκων. Σε αυτές τις μελέτες αξιολογήθηκε ποικιλία μεθόδων που ταξινομούνται αδρά ως ακόλουθα:

i. Κλωνογόνοι μέθοδοι:

✦ Μέθοδος κλωνοποίησης καρκινικών κυττάρων (HTCA: human tumor cloning assay),

✦ Μέθοδος κλωνοποίησης τριχοειδών (CCSA: capillary cloning system assay).

ii. Μέθοδοι αξιολόγησης κυτταρικού θανάτου:

✦ μέθοδος διαφορικής χρώσης κυτταροτοξικότητας (differential staining cytotoxicity, DiSC),

✦ μέθοδος της methylthiazolyl-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT),

✦ μέθοδος της τριφωσφορικής αδενοσίνης (adenosine triphosphate, ATP), και

✦ μέθοδος ακραίας αντίστασης στο φάρμακο (extreme drug resistance, EDR).

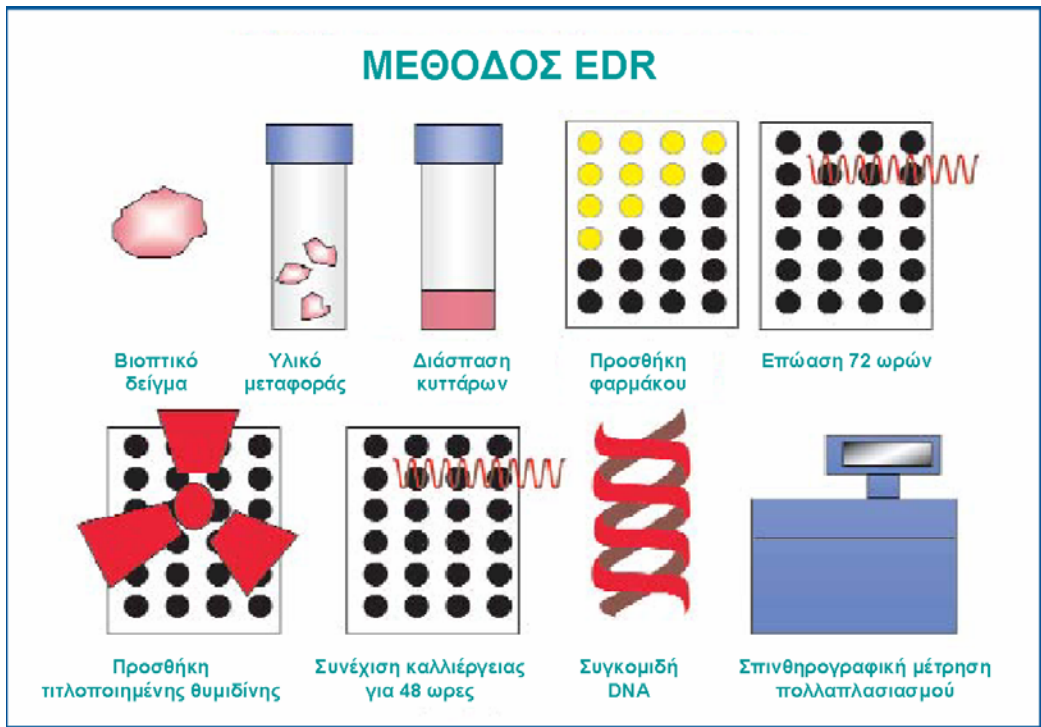
iii. Η μέθοδος υπονεφρικής κάψης: subrenal capsule assay (SRCA).

Από πλευράς τεχνικής αξιολόγησης οι δοκιμασίες *in vitro* ελέγχου της χημειοευαισθησίας έχουν εκτιμηθεί από τον Οργανισμό Τροφών και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) ότι εμπίπτουν στην ομάδα βιολογικών εργαστηριακών εφαρμογών υψηλής τεχνολογικής πολυπλοκότητας οι οποίες δεν είναι εφικτό να εκτελούνται σε σταθερή βάση με ασφάλεια και αξιοπιστία από κάθε κλινικό εργαστήριο.

Σε συνάφεια με την FDA αξιολόγηση οι κλωνογόνοι μέθοδοι έχουν αποσυρθεί από εμπορική χρήση λόγω τεχνικών προβλημάτων πολυπλοκότητας και έλλειψης επικύρωσης. Για παρόμοιους λόγους απεσύρθησαν επίσης η μέθοδος αλλαγής χρώσης methylthiazolyl diphenyl tetrazolium chloride, και η μέθο-

δος ATP. Σήμερα τείνουν να επικρατήσουν μέθοδοι ελέγχου της φαρμακευτικής αντοχής μάλλον παρά της εκτίμησης χημειοευαισθησίας λόγω πλεονεκτημάτων προβλεπτικής ακριβείας (90% vs 70%, Blue Cross Blue Shield Association Technology Evaluation Center)¹⁰ αλλά και βιολογικής λογικής (αρκεί η διαπίστωση

αντοχής ενός κλώνου για να θεωρηθεί ο συμπαγής όγκος ανθεκτικός στο συγκεκριμένο φάρμακο)^{11, 12}. Στις ΗΠΑ σήμερα, μόνο μια εταιρεία έχει πάρει κρατική πιστοποίηση για προώθηση προς εμπορική χρήση της δοκιμασίας EDR (Onco-tech, Irvine, CA)^{13,14} (σχήμα 1).



Σχήμα 1: Διαγραμματική απεικόνιση μεθόδου EDR

Ισχυρά σημεία

Ο έλεγχος της χημειοαντοχής των όγκων παρουσιάζει σημαντικό κλινικό ενδιαφέρον και δυνητικά πλεονεκτήματα στην περίπτωση adjuvant χημειοθεραπείας επί χειρουργηθέντων καρκίνων και επίσης σε αιματολογικές νεοπλασματικές νόσους.

Για παράδειγμα αναφέρεται η περίπτωση του μη-μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC): η μεν adjuvant χημειοθεραπεία υποστηρίζεται με βάση τελευταία κλινικά δεδομένα, αλλά

το σύνολο των διαθέσιμων συνδυασμών χημειοθεραπείας δεν έχει δείξει να διαφοροποιείται ως προς την κλινική δραστηριότητα.

Μελέτες με χρήση μεθόδου EDR έδειξαν ότι η in vitro διαπίστωση αντοχής ενός χημειοθεραπευτικού δικαιολογεί την απόρριψη της κλινικής του χρήσης στον πάσχοντα από τον συγκεκριμένο καρκίνο ασθενή, επειδή αποτελεί ισχυρό προβλεπτικό στοιχείο έλλειψης δραστηριότητας σε χειρουργημένο καρκίνο του πνεύμονα^{15,16}.

Η οξεία λευχαιμία των παιδιών αποτελεί μία ακόμη κλινική κατάσταση που φέρεται επίσης να ευνοείται από την χρήση μεθόδων πειραματικού ελέγχου της χημειοευαισθησίας είναι^{17,18}.

Προβλήματα και μειονεκτήματα

Ποικίλοι ποράγοντες είναι δυνατόν να επηρεάσουν τόσο την εκβάση της αντικαρκινικής θεραπείας στην κλινική πράξη όσο και τα αποτελέσματα των δοκιμασιών ελέγχου στο εργαστήριο. Αναφορικά με δοκιμασίες *in vitro* ελέγχου της χημειοευαισθησίας παρά την ορθολογική θεωρητική τους βάση, δεν έτυχαν κοινής αποδοχής εφαρμογής τους στην λόγω ποικίλων προβλημάτων.

Βασικά ερωτήματα που θέτουν τις μεθόδους *in vitro* ελέγχου της χημειοευαισθησίας σε αμφισβήτηση πρακτικής χρησιμότητας είναι τα ακόλουθα:

Η διάθεση ζωντανού βιοπτικού υλικού

Βασική προϋπόθεση εφαρμογής και εκτιμησιμότητας των μεθόδων *in vitro* ελέγχου της χημειοευαισθησίας των όγκων είναι η διάθεση ικανού σε ποσότητα και ποιότητα βιοπτικού υλικού. Στην πράξη η προϋπόθεση αυτή αναιρείται σε περιπτώσεις μικρών βιοπτικών δειγμάτων που λαμβάνονται συχνά με βελόνη ή κατά την διάρκεια ενδοσκοπικών εξετάσεων. Επίσης, η δυνατότητα κατάλληλου άμεσου χειρισμού του δείγματος στις περισσότερες χειρουργικές αίθουσες πρακτικά αμφισβητείται.

Η πολυκλωνικότητα των συμπαγών όγκων

Στις δοκιμασίες ελέγχου χημειοευαισθησίας, δείγμα όγκου ενός ασθενή μπορεί να δώσει πολλά ιστικά τεμαχίδια ή κυτταρικά εναιωρήματα καθένα από τα οποία θα εκτεθεί σε ποικιλία κυτταροτοξικών παραγόντων και συγκεντρώσεων. Σαν συνέπεια, χρειάζεται συνεκτίμηση όλων των δυνατών πληροφο-

ριών πολλαπλών δοκιμασιών επειδή κανένα ιστικό δείγμα δεν μπορεί από μόνο του να είναι αντιπροσωπευτικό της συμπεριφοράς του όγκου του ασθενή δεδομένης της πολυκλωνικότητας των συμπαγών όγκων.

Τεχνικές δυσκολίες

Στο σύνολο των μεθόδων, οι κλωνογόνες δοκιμασίες και το SRCA απαιτούν εντατική χρονοβόρο εργασία και είναι τεχνικά δύσκολες. Η εκτιμησιμότητα και το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την ολοκλήρωση του ελέγχου (μέχρι 2 εβδομάδες) είναι παράγοντες που έχουν επιπτώσεις στη χρηστικότητα ελέγχου που θα καθοδηγήσει τη λήψη θεραπευτικής απόφασης.

Πτωχή προσομοίωση κλινικών συνθηκών

Οι συνθήκες καλλιέργειας των κλωνογόνων μεθόδων δεν μπορούν να αναπαράγουν ικανοποιητικά την *in vivo* ιστική αρχιτεκτονική και μορφολογία του ιστού κατά τη έκθεση τους στα φάρμακα. Η αδυναμία αναπαραγωγής των κλινικών συνθηκών αποτελεί μειονέκτημα και για τις μεθόδους που ελέγχουν τον κυτταρικό θάνατο (DiSC, MTT, ATP, EDR). Επιγραμματικά:

1. Η DiSC ανιχνεύει άθικτες μεμβράνες κυττάρων με χρήση χρωστικών ουσιών, και μπορεί έτσι να υπερεκτιμήσει τη κυτταρική βιωσιμότητα δεδομένου ότι μερικά νεκρά κύτταρα μπορούν προσωρινά να διατηρήσουν τις άθικτες μεμβράνες.
2. Οι μέθοδοι MTT και ATP εκτιμούν τον αριθμό κυττάρων από τη μεταβολική δραστηριότητα πράγμα που μπορεί να επιφέρει σύγχυση ανάμεσα σε ένα μικρό έντονα ενεργό κυτταρικό πληθυσμό και σε μεγάλο αριθμό λιγότερο ενεργών κυττάρων.
3. Η μέθοδος EDR μετρά τα ποσοστά

σύνθεσης DNA, αλλά είναι χρήσιμο μόνο να να χαρακτηρίσουν «ακραία» αντίσταση σε φάρμακα.

ΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Κλινική αξιολόγηση

Η κλινική σημασία των μεθόδων *in vitro* αξιολόγησης της χημειοευαισθησίας των όγκων μπορεί να εκτιμηθεί από την επίδρασή τους στην έκβαση των ασθενών.

Ανασκόπηση κλινικών μελετών που συσχέτισαν τα αποτελέσματα *in vitro* δοκιμής με την *in vivo* απάντηση δείχνει ότι ένα αρνητικό αποτέλεσμα δοκιμής μπορεί να είναι ψευδές σε 20% των περιπτώσεων, ενώ θετικό αποτέλεσμα μπορεί να είναι ψευδές σε 13% των περιπτώσεων⁹.

Δημοσιευμένη κλινική εμπειρία

Σημαντική κλινική εμπειρία στην μελέτη και χρήση *in vitro* μεθόδων έλεγχου και ευαισθησίας στα κυτταροτοξικά φάρμακα, και ειδικά της HTCA, έχει αρχικά καταγράψει η ομάδα D.Von Hoff et al^{19,20}. Οι ερευνητές αυτοί χορήγησαν μονοχημειοθεραπεία σε 470 ασθενείς με ποικιλία μεταστατικών καρκίνων μετά από *in vitro* έλεγχο δραστηριότητας 32 αντινεοπλασματικών φαρμάκων. Καθοδηγούμενη θεραπεία με φάρμακα στα οποία απεδείχθησαν *in vitro* δραστικά απέδωσε στον ετερογενή αυτό πλυθυσμό των ασθενών ποσοστά κλινικής ανταπόκρισης 25% ενώ η εμπειρική θεραπεία που χορηγήθηκε σε ασθενείς για τους όγκους των οποίων απέτυχε να διαπιστωθεί δραστικό φάρμακο είχε στο σύνολό της 14% ποσοστό ανταπόκρισης ($p=0,0005$). Από την ίδια ομάδα προέρχεται άλλη μια μελέτη που διεξήχθη σε γυναίκες ασθενείς με επιθηλιακό καρκίνο ωοθηκών. Ακολουθώντας την ίδια μέθοδο επιλογής θεραπευτικού σκέλους

μετά από *in vitro* τεκμηρίωση της δραστηριότητας οι ερευνητές διαπίστωσαν ποσοστά θεραπευτικής ανταπόκρισης 22% για την καθοδηγούμενη με δοκιμασίες ευαισθησίας θεραπεία και 3% για την εμπειρική θεραπεία. Εντούτοις τα φαινομενικά θετικά ευρήματα αυτών των μελετών αμφισβητήθηκαν. Στην αρνητική κριτική των μελετών καταχωρείται η ετερογένεια των ασθενών της μελέτης, η απουσία τυχαιοποίησης και ο εξ ορισμού εξ αρχής διαχωρισμός των δυο ομάδων σε ασθενείς με χημειοευαίσθητους όγκους και χημειοανθεκτικούς (*in vitro* τεκμηριωμένους).

Παρόμοια, και άλλες μελέτες σύγκρισης *in vitro* καθοδηγούμενης έναντι εμπειρικής χημειοθεραπείας είχαν στο σύνολό τους κοινές μεθοδολογικές αδυναμίες τον μικρό αριθμό ασθενών, την ελλιπή αναφορά κλινικών στοιχείων, την απουσία τυχαιοποίησης και την επιλογή στην ομάδα της καθοδηγούμενης θεραπείας, ασθενών με τους πλέον χημειοευαίσθητους όγκους^{9,21,22}.

EDR: Σε συγκριτική μη τυχαιοποιημένη μελέτη θεραπείας ασθενών με ευαίσθητο στην πλατίνα καρκίνου της ωοθήκης σε υποτροπή, αναφέρεται υπεροχή της καθοδηγούμενης από test EDR θεραπείας έναντι της εμπειρικής ασθενείς (ποσοστά αντικειμενικής ανταπόκρισης 65% versus 35% ($p=0,02$) και χρόνος ελεύθερος υποτροπής 24 versus 6 μήνες)¹⁴. Στα αρνητικά της μελέτης καταγράφονται η μη τυχαιοποίηση και η αναδρομικότητα που υποκρύπτει υψηλή πιθανότητα μεροληψίας.

Ο *in vitro* έλεγχος της ευαισθησίας των όγκων στα κυτταροτοξικά φάρμακα αποτελεί μια ορθολογική προσέγγιση επιλογής της τεκμηριωμένα πιο δραστηρικής κατά περίπτωση ασθενούς χημειο-

θεραπείας. Εντούτοις, για να υπάρξει κατηγορηματική απάντηση αναφορικά με την κλινική χρησιμότητα των *in vitro* δοκιμασιών χημειοευαισθησίας-χημειοαντοχής στην εξατομικευμένη επιλογή θεραπείας η σχετική έρευνα χρειάζεται σωστά σχεδιασμένες κλινικές μελέτες, σύγκριση πρακτικά εφαρμόσιμων δοκιμασιών με σύγχρονα θεραπευτικά σχήματα αναφοράς και ενδεχόμενα παράλληλες φαρμακογονιδιωματικές μελέτες²³⁻²⁶.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Hamilton A, Hortobagyi G. Chemotherapy: what progress in the last 5 years? *J Clin Oncol* 2005; 23(8):1760-1775.
2. Georgoulis V, Papadakis E, Alexopoulos A et al. Platinum-based and non-platinum-based chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: a randomised multicentre trial. *Lancet* 2001; 357(9267):1478-1484.
3. Fountzilias G, Kalofonos HP, Dafni U et al. Paclitaxel and epirubicin versus paclitaxel and carboplatin as first-line chemotherapy in patients with advanced breast cancer: a phase III study conducted by the Hellenic Cooperative Oncology Group. *Ann Oncol* 2004; 15(10):1517-1526.
4. Feliu J, Castanon C, Salud A et al. Phase II randomised trial of raltitrexed-oxaliplatin vs raltitrexed-irinotecan as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *Br J Cancer* 2005; 93(11):1230-1235.
5. Kalofonos HP, Aravantinos G, Kosmidis P et al. Irinotecan or oxaliplatin combined with leucovorin and 5-fluorouracil as first-line treatment in advanced colorectal cancer: a multicenter, randomized, phase II study. *Ann Oncol* 2005; 16(6):869-877.
6. Mattern J. Testing chemosensitivity of human tumours. *Lancet* 1983; 1(8316):134.
7. Bertelsen CA, Sondak VK, Mann BD, Korn EL, Kern DH. Chemosensitivity testing of human solid tumors. A review of 1582 assays with 258 clinical correlations. *Cancer* 1984; 53(6):1240-1245.
8. Chabner BA, Roberts TG, Jr. Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. *Nat Rev Cancer* 2005; 5(1):65-72.
9. Samson DJ, Seidenfeld J, Ziegler K, Aronson N. Chemotherapy sensitivity and resistance assays: a systematic review. *J Clin Oncol* 2004; 22(17):3618-3630.
10. Chemotherapy Sensitivity and Resistance Assays. http://www.cbcs.com/tec/vol17/17_12.html [17][12]. 2005. Ref Type: Electronic Citation
11. Nagourney R. Chemosensitivity and resistance assays: a systematic review? *J Clin Oncol* 2005; 23(15):3640-3641.
12. Fruehauf JP, Alberts DS. *In vitro* drug resistance versus chemosensitivity: two sides of different coins. *J Clin Oncol* 2005; 23(15):3641-3643.
13. Kern DH, Weisenthal LM. Highly specific prediction of antineoplastic drug resistance with an *in vitro* assay using suprapharmacologic drug exposures. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82(7):582-588.
14. Holloway RW, Mehta RS, Finkler NJ et al. Association between *in vitro* platinum resistance in the EDR assay and clinical outcomes for ovarian cancer patients. *Gynecol Oncol* 2002; 87(1):8-16.
15. Wilbur DW, Camacho ES, Hilliard DA, Dill PL, Weisenthal LM. Chemotherapy of non-small cell lung carcinoma guided by an *in vitro* drug resistance assay measuring total tumour cell kill. *Br J Cancer* 1992; 65(1):27-32.
16. d'Amato T, Landreneau R, McKenna R, Santos R, Parker R. *In Vitro* Extreme Chemotherapy Resistance Patterns for Resected Non-Small Cell Lung Cancer. *Annals of Thoracic Surgery* 2005; Abstract 42.
17. Kaspers GJL, Veerman AJP, Pieters R et al. *In Vitro* Cellular Drug Resistance and Prognosis in Newly Diagnosed Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood* 1997; 90(7):2723-2729.
18. Winick NJ, Carroll WL, Hunger SP. Childhood Leukemia -- New Advances and Challenges. *N Engl J Med* 2004; 351(6):601-

- 603.
19. Von Hoff DD, Weisenthal L. In vitro methods to predict for patient response to chemotherapy. *Adv Pharmacol Chemother* 1980; 17:133-156.
 20. Von Hoff DD, Sandbach JF, Clark GM et al. Selection of cancer chemotherapy for a patient by an in vitro assay versus a clinician. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82(2):110-116.
 21. Cortazar P, Johnson BE. Review of the efficacy of individualized chemotherapy selected by in vitro drug sensitivity testing for patients with cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17(5):1625-1631.
 22. Xu JM, Song ST, Tang ZM et al. Predictive chemotherapy of advanced breast cancer directed by MTT assay in vitro. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 53(1):77-85.
 23. Ross DD, Doyle LA. Mining our ABCs: pharmacogenomic approach for evaluating transporter function in cancer drug resistance. *Cancer Cell* 2004; 6(2):105-107.
 24. Lievre A, Chapusot C, Bouvier AM et al. Clinical value of mitochondrial mutations in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23(15):3517-3525.
 25. Garcia-Campelo R, onso-Curbera G, nton Aparicio LM, Rosell R. Pharmacogenomics in lung cancer: an analysis of DNA repair gene expression in patients treated with platinum-based chemotherapy. *Expert Opin Pharmacother* 2005; 6(12):2015-2026.
 26. Huang Y, Sadee W. Drug sensitivity and resistance genes in cancer chemotherapy: a chemogenomics approach. *Drug Discov Today* 2003; 8(8):356-363.