

Nowotwory złośliwe stanowią drugą co do częstości przyczynę zgonów w Polsce. Najbardziej rozpowszechnionym rodzajem nowotworu u kobiet, zarówno jeżeli chodzi o liczbę zachorowań (21,5%), jak i umieralność (13,1%), jest rak piersi. Choć nowoczesne metody diagnostyki i leczenia zdecydowanie wydłużają okres bez nawrotu choroby oraz poprawiają przeżywalność pacjentek, wciąż zdarza się, że przepisany lek nie przynosi satysfakcjonujących efektów. Farmakogenetyka, nauka zajmująca się badaniem związku różnych wariantów genów z odpowiedzią chorego na lek, pozwala zmniejszyć odsetek chorych, u których bardzo kosztowne terapie są nieskuteczne. W hormonoterapii raka piersi obecnie najintensywniej badane są geny: *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *SULT1A1*, *UGT1A4*, *UGT2B15* i *CYP19*. Dotychczas związek pomiędzy konkretnym wariantem sekwencji a odpowiedzią na lek udało się potwierdzić w przypadku genów *CYP2D6* i *CYP19*.

Słowa kluczowe: rak piersi, hormonoterapia, farmakogenetyka, polimorfizm.

Farmakogenetyka w hormonoterapii raka piersi

Pharmacogenetics in breast cancer hormone therapy

Anna Supernat¹, Marzena Wetnicka-Jaśkiewicz², Anna Żaczek¹

¹Zakład Biologii Komórki, Katedra Biotechnologii Medycznej, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed w Gdańsku

²Klinika Onkologii i Radioterapii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Wstęp

Nowotwory złośliwe stanowią drugą co do częstości przyczynę zgonów w Polsce. Według danych statystycznych pochodzących z Krajowego Rejestru Nowotworów, najczęstszym rodzajem nowotworu w przypadku kobiet, zarówno jeżeli chodzi o liczbę zachorowań (21,5%), jak i umieralność (13,1%), jest rak piersi. Co więcej, liczba wykrytych przypadków tej choroby i zgonów z jej powodu z roku na rok się zwiększa [1]. Choć nowoczesne metody diagnostyki i leczenia zdecydowanie wydłużają okres bez nawrotu choroby oraz poprawiają przeżywalność chorych, wciąż zdarza się, że przepisany lek nie przynosi satysfakcjonujących efektów. Aby zmniejszyć odsetek chorych, u których terapie są nieskuteczne, warto skorzystać z osiągnięć farmakogenetyki.

Farmakogenetyka zajmuje się badaniem związku różnych wariantów genów z odpowiedzią chorego na lek. Wiedza na ten temat umożliwi dobranie optymalnej dla pacjenta terapii. Indywidualizacja leczenia zwiększa liczbę chorych odpowiadających w oczekiwany sposób na terapię, a do tego zmniejsza odsetek pacjentów cierpiących z powodu zbyt silnych skutków ubocznych zastosowanych farmaceutyków. W toku badań nad farmakogenetyką odkryto geny – tzw. markery predykcyjne – których różne warianty decydują w dużym stopniu o powodzeniu leczenia. Są to przede wszystkim sekwencje kodujące białka związane z farmakokinetyką różnego rodzaju ksenobiotyków. Wśród markerów predykcyjnych wyróżnia się m.in. geny kodujące:

- enzymy zaangażowane w metabolizm leku,
- białka transportujące lek,
- receptory wiążące lek.

W kwestii zróżnicowanej odpowiedzi na leczenie za szczególnie istotną uznaje się zmienność genetyczną w obrębie enzymów należących do rodziny cytochromu P450. Zależnie od polimorfizmu genów *CYP*, w populacji można wyróżnić 4 grupy fenotypowe:

- grupa bardzo szybko metabolizująca lek (tzw. *ultrarapid metabolizers* – UM) – chorzy mający więcej niż 2 aktywne kopie genu kodującego dany enzym cytochromu P450,
- grupa metabolizująca lek w sposób standardowy (tzw. *extensive metabolizers* – EM) – chorzy mający dwie funkcjonalne kopie genu kodującego dany enzym cytochromu P450,
- grupa metabolizująca lek w sposób pośredni (tzw. *intermediate metabolizers* – IM) – chorzy mający tylko jedną funkcjonalną kopię genu kodującego dany enzym cytochromu P450 lub też chorzy mający dwie częściowo funkcjonalne kopie genu,
- grupa słabo metabolizująca lek (*poor metabolizers* – PM) – chorzy, którzy nie mają funkcjonalnego enzymu z rodziny cytochromu P450 na skutek delekcji lub mutacji inaktywującej ten gen.

Malignant neoplasms are the second leading cause of death in Poland. Breast cancer constitutes 21.5% of all cancer incidence and 13.1% of mortality, which makes it the most common tumour among women. Although new methods of diagnostics and treatment extend the recurrence-free survival and survival rate, it still occurs that a prescribed drug fails to bring satisfactory effects. Pharmacogenetics, the study of genetic variation that gives rise to differing responses to treatment, can help decrease the number of patients who will not benefit from costly therapy due to their genetic predispositions. In the case of hormone therapy administered to breast cancer patients, the most intensively studied genes are: *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *SULT1A1*, *UGT1A4*, *UGT2B15* and *CYP19*. Thus far, a correlation between a particular allele and drug response has been proven only for genes *CYP2D6* and *CYP19*.

Key words: breast cancer, hormone therapy, pharmacogenetics, polymorphism.

Przy okazji omawiania farmakokinetyki związanej z cytochromem P450 warto również wspomnieć, że w wyniku badań nad genem *CYP2D6* odkryto, iż *microRNA* oraz metylacja DNA mogą wpływać do pewnego stopnia na różną odpowiedź na lek w przypadku chorych cechujących się tym samym fenotypem [2–4].

Choć geny kodujące receptory i białka transportujące leki również potrafią wpływać na odpowiedź na terapię, takich przykładów znaleziono znacznie mniej i przyjmuje się, że to jednak enzymy odgrywają kluczową rolę w farmakogenetyce [4]. Szczególnie istotne są tutaj białka należące do rodziny cytochromu P450, ponieważ odkryto, że stanowią one aż 80% enzymów zaangażowanych w fazę pierwszą metabolizowania leków [5]. Prowadzenie badań nad farmakogenetyką związaną z genami *CYP* jest więc szczególnie uzasadnione.

Rodzina ludzkich genów *CYP*, kodujących białka z rodziny cytochromu P450, jest bogata i wysoce polimorficzna. Wiedza na temat poszczególnych alleli została zgromadzona na stronie internetowej należącej do Instytutu Karolinska (<http://cypalleles.ki.se/>). Spośród 30 wymienionych tam genów aż 4 są związane z farmakogenetyką raka piersi. Są to sekwencje: *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A5* oraz *CYP19* [6].

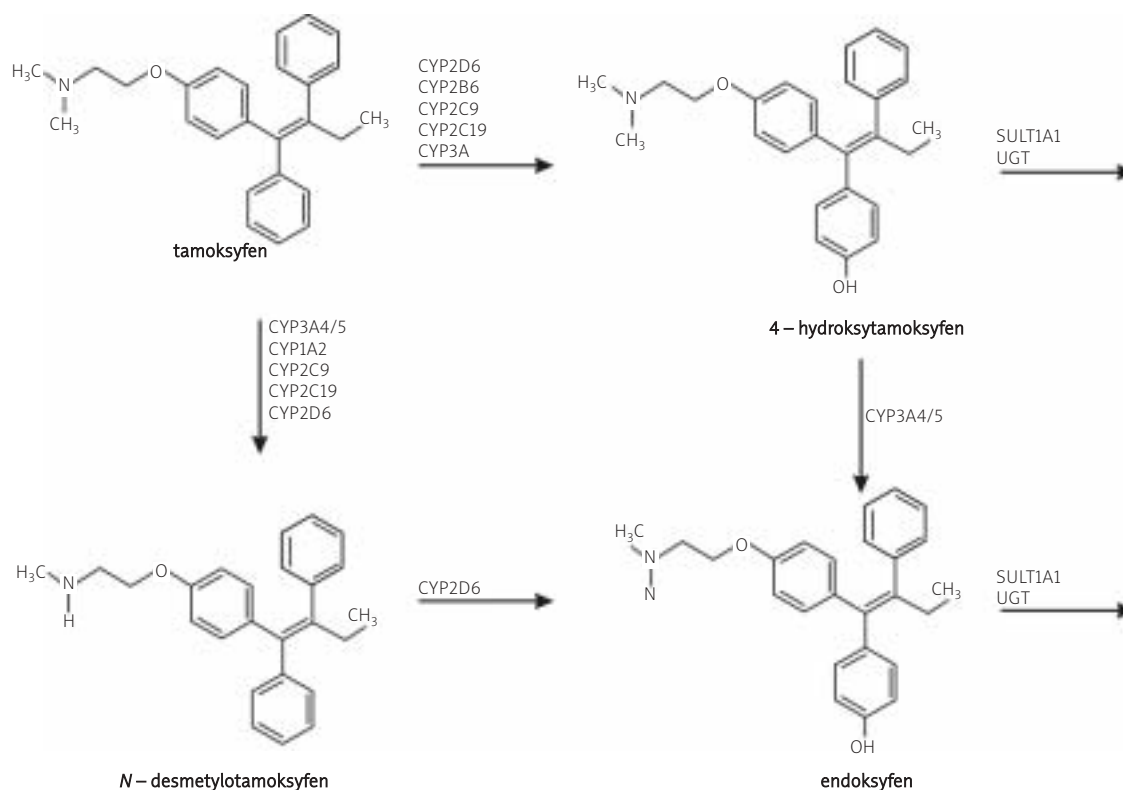
W skład polimorfizmów genów *CYP* wchodzi mniejsze rearanżacje (substytucje, drobne delecje czy też insercje) oraz delecje i amplifikacje całych genów. Można więc mówić zarówno o polimorfizmach pojedynczego nukleotydu (*single nucleotide polymorphisms* – SNPs), jak i o wariantach liczby kopii (*copy number variations* – CNVs). Zwłaszcza te drugie zyskały na popularności w przeciągu ostatnich lat, ponieważ różnice w liczbie kopii funkcjonalnych genów cytochromu mogą w znaczący sposób przyspieszyć lub zwolnić metabolizm leku. Nie bez znaczenia dla zwiększenia popularności CNVs było również rozwinięcie się metod badawczych, głównie technologii mikromacierzy [7–9].

Z enzymami należącymi do rodziny cytochromu P450 wiąże się odpowiedź na bardzo różnorodne preparaty przepisywane w przypadku takich chorób, jak depresja, schizofrenia czy nowotwór. W tym miejscu szczególnie warto wymienić hormonoterapię – rodzaj leczenia systemowego, który stosuje się przy nowotworach hormonozależnych, a więc takich jak rak piersi [4]. Dwie najważniejsze grupy leków hormonalnych najczęściej stosowanych w terapii raka piersi to antyestrogeny (*selective estrogen receptor modifiers* – SERM) i inhibitory aromatazy (*aromatase inhibitors* – AI).

Mechanizm działania antyestrogenów opiera się na antagonizmie w stosunku do receptora estrogenowego. Oznacza to, że lek z grupy SERM będzie wiązał się z receptorem estrogenowym, uniemożliwiając wiązanie się w to miejsce estrogenów i ograniczając w ten sposób przemieszczanie się kompleksów estrogen–receptor w kierunku jądra komórkowego. W związku z mechanizmem działania leki z grupy SERM mogą być stosowane wyłącznie u chorych wykazujących ekspresję receptorów estrogenowych.

Tamoksyfen to najpopularniejszy antyestrogen. Oprócz opisanego powyżej sposobu działania, dodatkową funkcją tego preparatu jest inhibicja aktywności niektórych polipeptydowych czynników wzrostu oraz blokowanie konwersji estronu w estradiol [2, 4, 10]. Choć lek sam w sobie ma stosunkowo niskie powinowactwo do receptora estrogenowego, jego aktywne metabolity wykazują działanie antyestrogenowe, dlatego też istotne jest, by tamoksyfen został przetworzony w wątrobie przez izoformę cytochromu P450, *CYP2D6* do aktywnych metabolitów, takich jak 4-hydroksytamoksyfen i endoksyfen [11–14]. Produkty genu *CYP2D6* wykazują silniejsze powinowactwo do receptora estrogenowego niż ich prekursor, co w efekcie prowadzi do hamowania syntezy czynników wzrostu i pobudzenia tworzenia receptorów progesteronowych [15, 16]. Proliferacja komórek nowotworowych wrażliwych na działanie estrogenów ulega wtedy zmniejszeniu (ryc. 1).

Rolą inhibitorów aromatazy jest hamowanie aktywności enzymu odpowiedzialnego za przekształcanie androgenów w estrogeny. Wspomniana konwersja stanowi główne źródło estrogenów u kobiet po menopauzie i to wła-



Ryc. 1. Uproszczony schemat metabolizmu tamoksyfenu. CYP – izoenzymy cytochromu P450; SULT1A1 – sulfotransferaza 1A1; UGT – glukuronylotransferaza UDP; na podstawie [2]

Fig. 1. Simplified scheme of tamoxifen metabolism. CYP – cytochrome P450 isoenzymes; SULT1A1 – sulfotransferase 1A1; UGT – UDP glucuronosyltransferase [2]

śnie takim chorym na raka piersi podaje się AI, zarówno w przypadku zaawansowanego stadium nowotworu, jak i w ramach leczenia uzupełniającego. Stężenie estrogenu ulega wtedy zmniejszeniu, a proliferacja komórek nowotworowych wrażliwych na ten hormon – zahamowaniu [10, 17].

Letrozol to jeden z najpopularniejszych IA stosowanych w terapii raka piersi. Choć liczba publikacji na temat tego leku nie jest tak imponująca, jak w przypadku tamoksyfenu, wykazano, że pewien wariant genu *CYP19* wiąże się ze zmienioną odpowiedzią chorych na letrozol [18].

Geny związane z metabolizmem tamoksyfenu

Gen *CYP2D6*

CYP2D6 to najważniejszy polimorficzny enzym zaangażowany w metabolizm leków. Bierze udział w przetwarzaniu 25% farmaceutyków dostępnych na rynku, w tym tamoksyfenu [5]. *CYP2D6* to jedyny enzym z rodziny cytochromu P450, który nie jest indukowany, na skutek czego zmienność genetyczna występująca w obrębie populacji w jeszcze większym stopniu decyduje o tempie metabolizmu danego leku [4].

Używając różnych metod badawczych, scharakteryzowano więcej niż 80 różnych funkcjonalnych wariantów genu *CYP2D6*, przy czym dodatkowo zostało odkrytych jeszcze ok. 10 SNPs, nad którymi badania wciąż trwają. Początkowo do analizy sekwencji kodującej cytochrom P450 uży-

wano głównie techniki polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (*restriction fragment length polymorphism* – RFLP), a także amplifikacji allelo-specyficznej (*amplification of specific alleles PCR* – ASA-PCR) i polimorfizmu konformacji pojedynczych nici DNA (*single strand conformation polymorphism PCR* – SSCP-PCR). Wraz z postępem metod genotypowania zaczęto stosować wysokosprawną chromatografię cieczową (*high performance liquid chromatography* – HPLC) w warunkach denaturujących (*denaturing high performance liquid chromatography*) i sekwencjonowanie, a w późniejszym czasie – pirosekwencjonowanie [19–23].

Skasyfikowane polimorfizmy dzielą się na allele związane ze zredukowaną, zmniejszoną, normalną i zwiększoną aktywnością enzymu, co przedstawiono w tabeli 1. Najważniejsze warianty wiążące się z całkowitą utratą funkcjonalności to *CYP2D6*4* (defekt składania genowego) występujący w populacji kaukaskiej z częstością 17,2–20,7% oraz *CYP2D6*5* (delecja całego genu), zdarzający się w 2–6,9% przypadków [23–25]. Z kolei częste warianty, których efektem jest zmniejszona aktywność enzymu, to *CYP2D6*10*, *CYP2D6*17* i *CYP2D6*41* [26–28]. *CYP2D6*10* odnotowywany jest u 1,5–2% badanych, a *CYP2D6*41* – u 8,4% [29]. Z tego powodu, że gen *CYP2D6* jest podatny na występowanie CNVs, zidentyfikowano allele o następującej liczbie kopii *CYP2D6*: 0, 1, 2, 3, 4, 5 i 13. Amplifikacja dotyczyła funkcjonalnych, częściowo funkcjonalnych i niefunkcjonalnych genów [30, 31].

W populacji kaukaskiej osoby słabo metabolizujące tamoksyfen zdarzają się z częstością 5–10%, z kolei osoby

Tabela 1. Częstości oraz funkcjonalność występujących w obrębie kaukaskiej populacji alleli genu *CYP2D6*
Table 1. Frequency and functionality of *CYP2D6* alleles occurring within Caucasian population

Allel	Aktywność enzymu	Fenotyp	Opis mutacji	Częstość występowania w populacji kaukaskiej	Źródła
<i>CYP2D6*1</i>	normalna	EM	wild type	32,2–36,4%	[21–23]* [33]**
<i>CYP2D6*1xN</i> N=2, N>2	wysoka	UM	amplifikacja genu	0,5–5%	[22, 34]* [35]**
<i>CYP2D6*2</i>	normalna	EM	2850C>T, 4180G>C	28,5–32,4%	[21–23]* [31]**
<i>CYP2D6*2xN</i> N=2, 3, 4, 5, 13	wysoka	UM	amplifikacja genu	1–1,3% (dot. duplikacji)	[21, 22]* [31]**
<i>CYP2D6*3</i>	brak	PM	2549delA	1–2%	[21, 22]* [25]**
<i>CYP2D6*4</i>	brak	PM	1846G>A	17,2–20,7%	[21, 22]* [25]**
<i>CYP2D6*5</i>	brak	PM	delecja genu	2–6,9%	[21]* [24]**
<i>CYP2D6*6</i>	brak	PM	1707delT	0,9–1,3%	[21, 22]* [36]
<i>CYP2D6*9</i>	obniżona	IM	2615_2617delAAG	1,8–2,7%	[21]* [37]**
<i>CYP2D6*10</i>	obniżona	IM	100C>T	1,5–2%	[21, 22]* [28]**
<i>CYP2D6*41</i>	obniżona	IM	2988G>A	8,4%	[19]* **

UM – grupa bardzo szybko metabolizująca lek (ultrarapid metabolizers)

EM – grupa metabolizująca lek w sposób standardowy (extensive metabolizers)

IM – grupa metabolizująca lek w sposób pośredni (intermediate metabolizers)

PM – grupa słabo metabolizująca lek (poor metabolizers)

*źródło częstości

**źródło odkrycia

metabolizujące tamoksyfen w sposób pośredni – z częstością 10–15% [32].

Podsumowując – polimorfizm *CYP2D6* wydaje się najważniejszym spośród wszystkich genów badanych pod kątem farmakogenetyki. Szacuje się, że w populacji kaukaskiej nawet do 25% chorych na raka piersi, które cechują się przyspieszonym metabolizmem, może cierpieć z powodu zbyt małej dawki tamoksyfenu. Uwzględnienie tego faktu połączone z wykonaniem profilu polimorficznego mogłoby mieć kluczowe znaczenie przy przepisywaniu chemioterapii adiuwantowej zamiast jedynie hormonoterapii [2].

Geny *CYP3A4* i *CYP3A5*

Geny *CYP3A4* i *CYP3A5* biorą udział w szlaku przemian metabolicznych tamoksyfenu (ryc. 1). Można by więc przypuszczać, że także ich polimorfizm będzie miał kluczowe znaczenie dla farmakodynamiki tego leku. Niestety, wyniki eksperymentów z udziałem *CYP3A4* i *CYP3A5* nie były tak spektakularne, jak w przypadku *CYP2D6*.

Podczas analizy sekwencji *CYP3A4* wykazano związek wariantu promotorowego *CYP3A4*1B* (–392A>G) z fenotypem nowotworu. Niemniej nie udało się potężyć tego allelu ze zmienioną odpowiedzią na tamoksyfen, pomimo że pojawiły się doniesienia sugerujące możliwe związki pomiędzy występowaniem wariantu *CYP3A4*1B* a zwiększonym ryzykiem rozwoju raka trzonu macicy u chorych na raka piersi leczonych tamoksyfenem [38]. Analiza dużej grupy 566 chorych na raka błony śluzowej macicy wykazała istnienie wariantu *CYP3A4*1B* w 9% badanych przypadków. Allel ten

obserwowano istotnie częściej u osób, które wcześniej były leczone tamoksyfenem z powodu raka piersi. Obliczono, że ryzyko rozwoju raka trzonu macicy u nosicielek tego allelu chorych na raka piersi i leczonych tamoksyfenem jest trzykrotnie większe w porównaniu z chorymi nieleczonymi tym lekiem [38].

Wyniki badań nad *CYP3A5* również nie pozwoliły na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków. Choć allel *CYP3A5*3* (6986A>G) wiąże się z silnie obniżoną aktywnością tej formy cytochromu, w przeprowadzonych analizach nie udało się wykazać żadnego jego związku z metabolizmem tamoksyfenu lub choćby przebiegiem choroby [39–41].

Opisane odkrycia pokazują, jak wciąż jeszcze słabo są poznane mechanizmy rządzące farmakokinetyką tamoksyfenu. Możliwe, że bardziej globalne spojrzenie na warianty reprezentujące poszczególne oddziaływania przyniosłoby o wiele więcej informacji niż analiza pojedynczych polimorfizmów.

Geny *SULT1A1*, *UGT1A4* i *UGT2B15*

Oprócz białek zaangażowanych bezpośrednio w konwersję tamoksyfenu do jego metabolitów wtórnych, istnieją także enzymy odpowiedzialne za eliminację i inaktywację tego leku oraz jego pochodnych poprzez sprzęganie z siarczanem lub glukuronianem. Białka uczestniczące w tych przemianach kodowane są przez geny *SULT1A1*, *UGT1A4* i *UGT2B15*.

Choć allel *SULT1A1*2* (638G>A, Arg213His) faktycznie koduje enzym o zmniejszonej aktywności, próby wykazania związku pomiędzy konkretną zmianą a farmakokinety-

ką tamoksyfenu zakończyły się porażką [41]. Z kolei badania *in vitro* prowadzone nad wariantem *UGT1A4*, Leu49Val, wskazują, że wspomniana zmiana aminokwasowa wiąże się ze zwiększoną aktywnością glukuronizacji, ale jak do tej pory nie udowodniono istotności klinicznej tych danych [42]. Badaniom farmakogenetycznym poddano również *UGT2B15*, ale i tutaj nie udało się ustalić związku konkretnego polimorfizmu z daną odpowiedzią na leczenie [41].

Geny związane z metabolizmem letrozolu

Gen *CYP19*

Inhibitory aromatazy niejednokrotnie okazały się skuteczne zarówno w zaawansowanych, jak i wczesnych stadiach raka piersi u chorych po menopauzie, wykazujących ekspresję receptorów estrogenowych. Związek pomiędzy konkretnymi wariantami genów a odpowiedzią na AI, niestety, nie jest tak jasny, jak w przypadku sekwencji *CYP2D6* i SERM, ale badania nad wyjaśnianiem mechanizmów farmakogenetycznych wciąż trwają – do tej pory udało się ustalić pewne powiązania genu *CYP19*, kodującego aromatazę, z odpowiedzią na letrozol – najczęściej stosowany lek z grupy AI [18].

W 2005 r. Ma i wsp. zsekwencjonowali powtórnie gen *CYP19*, znajdując 88 polimorfizmów skutkujących 44 różnymi haplotypami. Co więcej, autorzy publikacji, po uzyskaniu wspomnianych wyników, zdecydowali się na badania funkcjonalne 4 niesynonimicznych SNPs, z których dwa były nowo odkrytymi polimorfizmami. Wszystkie cztery polimorfizmy (Trp³⁹Arg, Thr²⁰¹Met, Arg²⁶⁴Cys oraz Met³⁶⁴Thr), a także podwójny wariant Arg³⁹Cys²⁶⁴, zostały poddane przejściowej ekspresji w komórkach COS-1 i wykazały znaczący spadek aktywności w porównaniu z enzymem typu *wild type* [43].

Znaczący wkład w wiedzę na temat farmakogenetyki miały badania zespołu Colomera, gdzie wybrano do analizy 3 niesynonimiczne SNPs (rs4646, rs10046 oraz rs727479) i udowodniono, że obecność wariantu rs4646 wiąże się ze szczególnie korzystną odpowiedzią na letrozol [18]. Wyniki, choć bardzo obiecujące, wymagają jednak dalszej walidacji, nim posłużą jako narzędzie farmakogenetyczne.

Podsumowanie

Wyniki badań zebrane w niniejszej publikacji pokazują, że farmakogenetyka może stać się w przyszłości, obok czynników, takich jak wywiad rodzinny, wiek chorego, średnica guza czy obecność przerzutów, jednym z najistotniejszych elementów branych pod uwagę podczas dobierania terapii. Niemniej, pomimo że wiele rezultatów analiz dotyczących farmakokinetyki leku u danego chorego zdaje się być bardzo obiecujących, wciąż konieczne jest prowadzenie prób klinicznych oraz poszerzanie wiedzy z zakresu mechanizmu działania enzymów związanych z przetwarzaniem ksenobiotyków. Choć zastosowanie kliniczne markerów predykcyjnych ciągle jeszcze ogranicza się jedynie do polimorfizmu *CYP2D6*, prace nad genami, takimi jak *CYP19*, *CYP3A4* czy *SULT1A1*, wciąż trwają i mogą w przyszłości przynieść pomyślne rezultaty.

Pomimo że farmakogenetyka związana z terapią hormonalną jest jeszcze mało poznana i wymaga dalszych

badania, wielu autorów postuluje, że polimorfizm genu *CYP2D6* powinien być brany pod uwagę w przypadku kobiet w okresie pomenopauzalnym, choćby badanie to miało się ograniczyć jedynie do genotypowania alleli związanych z fenotypem charakterystycznym dla pośredniego i słabego metabolizmu. Umożliwiłoby to wyeliminowanie z hormonoterapii przynajmniej tych chorych, w przypadku których skuteczność terapii tamoksyfenem z pewnością okaże się niedostateczna [6, 44]. Co więcej, identyfikacja chorych bardzo szybko metabolizujących tamoksyfen pozwoliłaby na wydłużenie u tych osób czasu podawania SERM do 4–5 lat, przed kontynuacją leczenia za pomocą inhibitorów aromatazy [44].

Piśmiennictwo

1. Didkowska J, Wojciechowska U, Zatonski W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2006. Warszawa: Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie 2008.
2. Dezentjé VO, Guchelaar HJ, Nortier JW, van de Velde CJ, Gelderblom H. Clinical implications of CYP2D6 genotyping in tamoxifen treatment for breast cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 15-21.
3. Hoskins JM, Carey LA, McLeod HL. CYP2D6 and tamoxifen: DNA matters in breast cancer. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 576-86.
4. Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeconomic and clinical aspects. *Pharmacol Ther* 2007; 116: 496-526.
5. Eichelbaum M, Ingelman-Sundberg M, Evans WE. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annu Rev Med* 2006; 57: 119-37.
6. Tan SH, Lee SC, Goh BC, Wong J. Pharmacogenetics in breast cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 8027-8041.
7. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006; 444: 444-54.
8. Stranger BE, Forrest MS, Dunning M, et al. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. *Science* 2007; 315: 848-53.
9. Conrad DF, Pinto D, Redon R, et al. Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature* 2010; 464: 704-12.
10. Kordek R, Jassem J, Krzakowski M, et al. Onkologia. Podręcznik dla studentów i lekarzy. Via Medica, Gdańsk 2007.
11. Crewe HK, Ellis SW, Lennard MS, Tucker GT. Variable contribution of cytochromes P450 2D6, 2C9 and 3A4 to the 4-hydroxylation of tamoxifen by human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 1997; 53: 171-8.
12. Dehal SS, Kupfer D. CYP2D6 catalyzes tamoxifen 4-hydroxylation in human liver. *Cancer Res* 1997; 57: 3402-6.
13. Jacolot F, Simon I, Dreano Y, Beaune P, Riche C, Berthou F. Identification of the cytochrome P450 IIIA family as the enzymes involved in the N-demethylation of tamoxifen in human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 1991; 41: 1911-9.
14. Wu X, Hawse JR, Subramaniam M, Goetz MP, Ingle JN, Spelsberg TC. The tamoxifen metabolite, endoxifen, is a potent antiestrogen that targets estrogen receptor alpha for degradation in breast cancer cells. *Cancer Res* 2009; 69: 1722-7.
15. Johnson MD, Zuo H, Lee KH, et al. Pharmacological characterization of 4-hydroxy-N-desmethyl tamoxifen, a novel active metabolite of tamoxifen. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 85: 151-9.
16. Lim YC, Li L, Desta Z, Zhao Q, Rae JM, Flockhart DA, Skaar TC. Endoxifen, a secondary metabolite of tamoxifen, and 4-OH-tamoxifen induce similar changes in global gene expression patterns in MCF-7 breast cancer cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 318: 503-12.
17. Stearns V, Davidson NE, Flockhart DA. Pharmacogenetics in the treatment of breast cancer. *Pharmacogenomics J* 2004; 4: 143-53.
18. Colomer R, Monzo M, Tusquets I, et al. A single-nucleotide polymorphism in the aromatase gene is associated with the efficacy of the aromatase inhibitor letrozole in advanced breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 811-6.

19. Raimundo S, Toscano C, Klein K, Fischer J, Griese EU, Eichelbaum M, Schwab M, Zanger UM. A novel intronic mutation, 2988G>A, with high predictivity for impaired function of cytochrome P450 2D6 in white subjects. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 76: 128-38.
20. Zackrisson AL, Lindblom B. Identification of CYP2D6 alleles by single nucleotide polymorphism analysis using pyrosequencing. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; 59: 521-6.
21. Griese EU, Zanger UM, Bruderhans U, Gaedigk A, Mikus G, Mörike K, Stüven T, Eichelbaum M. Assessment of the predictive power of genotypes for the in-vivo catalytic function of CYP2D6 in a German population. *Pharmacogenetics* 1998; 8: 15-26.
22. Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 284-295.
23. Marez D, Legrand M, Sabbagh N, Lo Guidice JM, Spire C, Lafitte JJ, Meyer UA, Broly F. Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics* 1997; 7: 193-202.
24. Gaedigk A, Blum M, Gaedigk R, Eichelbaum M, Meyer UA. Deletion of the entire cytochrome P450 CYP2D6 gene as a cause of impaired drug metabolism in poor metabolizers of the debrisoquine/sparteine polymorphism. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 943-50.
25. Kagimoto M, Heim M, Kagimoto K, Zeugin T, Meyer UA. Multiple mutations of the human cytochrome P450IID6 gene (CYP2D6) in poor metabolizers of debrisoquine. Study of the functional significance of individual mutations by expression of chimeric genes. *J Biol Chem* 1990; 265: 17209-14.
26. Masimirembwa C, Persson I, Bertilsson L, Hasler J, Ingelman-Sundberg M. A novel mutant variant of the CYP2D6 gene (CYP2D6*17) common in a black African population: association with diminished debrisoquine hydroxylase activity. *Br J Clin Pharmacol* 1996; 42: 713-9.
27. Raimundo S, Fischer J, Eichelbaum M, Griese EU, Schwab M, Zanger UM. Elucidation of the genetic basis of the common 'intermediate metabolizer' phenotype for drug oxidation by CYP2D6. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 577-81.
28. Yokota H, Tamura S, Furuya H, Kimura S, Watanabe M, Kanazawa I, Kondo I, Gonzalez FJ. Evidence for a new variant CYP2D6 allele CYP2D6J in a Japanese population associated with lower in vivo rates of sparteine metabolism. *Pharmacogenetics* 1993; 3: 256-63.
29. Wennerholm A, Johansson I, Masele AY, et al. Decreased capacity for debrisoquine metabolism among black Tanzanians: analyses of the CYP2D6 genotype and phenotype. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 707-14.
30. Aklilu E, Persson I, Bertilsson L, Johansson I, Rodrigues F, Ingelman-Sundberg M. Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an Ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional CYP2D6 alleles. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 278: 441-6.
31. Johansson I, Lundqvist E, Bertilsson L, Dahl ML, Sjöqvist F, Ingelman-Sundberg M. Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P450 CYP2D locus as a cause of ultrarapid metabolism of debrisoquine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 11825-9.
32. Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2004; 369: 23-37.
33. Kimura S, Umeno M, Skoda RC, Meyer UA, Gonzalez FJ. The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am J Hum Genet* 1989; 45: 889-904.
34. Bradford LD. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics* 2002; 3: 229-43.
35. Dahl ML, Johansson I, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M, Sjöqvist F. Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 274: 516-20.
36. Saxena R, Shaw GL, Relling MV, Frame JN, Moir DT, Evans WE, Caporaso N, Weiffenbach B. Identification of a new variant CYP2D6 allele with a single base deletion in exon 3 and its association with the poor metabolizer phenotype. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 923-926.
37. Tyndale R, Aoyama T, Broly F, et al. Identification of a new variant CYP2D6 allele lacking the codon encoding Lys-281: possible association with the poor metabolizer phenotype. *Pharmacogenetics* 1991; 1: 26-32.
38. Chu W, Fyles A, Sellers EM, McCreedy DR, Murphy J, Pal T, Narod SA. Association between CYP3A4 genotype and risk of endometrial cancer following tamoxifen use. *Carcinogenesis* 2007; 28: 2139-42.
39. Tucker AN, Tkaczuk KA, Lewis LM, Tomic D, Lim CK, Flaws JA. Polymorphisms in cytochrome P4503A5 (CYP3A5) may be associated with race and tumor characteristics, but not metabolism and side effects of tamoxifen in breast cancer patients. *Cancer Lett* 2005; 217: 61-72.
40. Goetz MP, Rae JM, Suman VJ, et al. Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *J Clin Oncol* 2005; 23: 9312-8.
41. Wegman P, Elingarami S, Carstensen J, Stål O, Nordenskjöld B, Wingren S. Genetic variants of CYP3A5, CYP2D6, SULT1A1, UGT2B15 and tamoxifen response in postmenopausal patients with breast cancer. *Breast Cancer Res* 2007; 9: R7.
42. Sun D, Chen G, Dellinger RW, Duncan K, Fang JL, Lazarus P. Characterization of tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen glucuronidation by human UGT1A4 variants. *Breast Cancer Res* 2006; 8: R50.
43. Ma CX, Adjei AA, Salavaggione OE, et al. Human aromatase: gene resequencing and functional genomics. *Cancer Res* 2005; 65: 11071-82.
44. Goetz MP, Kamal A, Ames MM. Tamoxifen pharmacogenomics: the role of CYP2D6 as a predictor of drug response. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 83: 160-6.

Adres do korespondencji

Anna Żaczek

Zakład Biologii Komórki
Katedra Biotechnologii Medycznej
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed
ul. Dębinki 1
80-211 Gdańsk
tel. +48 58 349 14 10
e-mail: azaczek@gumed.edu.pl