

Tamoksifenle Tedavi Edilen Meme Kanser Hastalarında CYP 2D6 Genetik Polimorfizminin Önemi

The Importance Of Genetic Polymorphism Of CYP 2D6 In Breast Cancer Patients Treated With Tamoxifen

Öz

Tamoksifen östrojen reseptör pozitif meme kanser hastalarının tedavisinin temel taşı oluşturmaktadır. Tamoksifenin etkinliği biyotransformasyonuna bağlıdır. Biyotransformasyonu baskın olarak CYP 2D6 izoformu tarafından gerçekleştirilerek, tamoksifen aktif metaboliti olan endoksifene dönüştürülmektedir. Hem genetik hem de çevresel faktörler CYP 2D6 enzim aktivitesini değiştirebilmekte, bu durumda aktif tamoksifen metabolitlerinin konsantrasyonlarını direkt olarak etkileyebilmektedir. Çok sayıda çalışmada, CYP 2D6 genetik varyantlarının adjuvant tamoksifenle tedavi edilen hastaların klinik sonuçlarını etkileyebileceği gösterilmiştir. Kişiyeye özel tedavi uygulamalarında, CYP 2D6 genotipleri ve TAM tedavisinin klinik yanıtı arasındaki bağlantı özellikle meme kanser hastalarında yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Derlememizde tamoksifenin tedavi yanıtıyla ilişkilendirilen CYP 2D6 genetik polimorfizminin moleküler dinamiğini ve klinikteki önemini özetlemeye çalıştık. Bu bilgilerin diğer çalışmalara ışık tutacağına inanmaktayız.

Abstract

Tamoxifen constitutes the cornerstone of the treatment of estrogen receptor positive breast cancer patients. Tamoxifen effectiveness is dependent on the biotransformation. Metabolism is predominantly carried out by the CYP 2D6 isoform and tamoxifen is converted to its active metabolite endoxifen. Both genetic and environmental factors can modify the CYP 2D6 enzyme activity, hence it can directly affect the concentrations of active metabolite of tamoxifen. In a number of studies it has shown CYP 2D6 genetic variants may affect the clinical outcomes of patients treated with adjuvant tamoxifen. People in private therapy practice, the link between the CYP 2D6 genotype and the clinical response of TAM treatment being studied intensively, especially in breast

Zehra OKAT

Selina TOPLAYICI

Elif KURT

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya ABD

Yazışma Adresleri /Address for
Correspondence:

Selina TOPLAYICI

Koşuyolu Mahallesi İsmailpaşa Sokak
No:54 KADIKÖY-İSTANBUL

Tel/phone: +90 536 334 92 80

E-mail:selina.toplayici@hipp.com.tr

Anahtar Kelimeler:

CYP 2D6, genetik polimorfizm,
meme kanseri, tamoksifen.

Keywords:

CYP 2D6, genetic polymorphism,
breast cancer, tamoxifen.

Geliş Tarihi - Received

11/12/2017

Kabul Tarihi - Accepted

09/01/2018

cancer patients. In this review, we tried to summarize the molecular dynamics of CYP 2D6 genetic polymorphism which is associated with tamoxifen treatment response and the importance of the clinic. We believe this information will shed light on the other studies.

Giriş

Özellikle Batılı ülkelerde kadınlar arasında görülen en yaygın kanser tipi meme kanseridir. Amerika Birleşik Devletlerinde, 2012 yılında; ortalama 39,920 kişinin meme kanseri sebebiyle hayatını kaybettiği ve 290,170 yeni vaka sayısı rapor edilmiştir. Erken teşhis ve tedavi protokollerindeki ilerlemeden dolayı, son 10 yılda meme kanserine bağlı ölümlerde bir azalma kaydedilmiş, 1960'lara nazaran 5 yıllık hayatta kalma oranının günümüzde %63'den %90'lara yükseldiği tespit edilmiştir (American cancer society. cancer facts and figures 2012). Meme kanseri ve östrojen hormonu arasındaki ilişkinin anlaşılması kanser tedavisinin ilerlemesine büyük ölçüde katkıda bulunarak, ölüm oranının azalmasına yardımcı olmuştur. Meme kanserlerinin yaklaşık %70'i östrojen bağımlıdır ve çoğu hasta östrojen reseptörlerini (ERs) eksprese etmektedir. ER pozitif meme kanser hücreleri, ER ile regüle edilen gen transkripsiyonu vasıtasıyla, östrojen ile tetiklenen proliferasyon mekanizması göstermektedir. Eğer östrojen ile stimüle olan meme kanser hücrelerinin proliferasyonu bloke edilebilirse, meme kanserinin kontrol edilebileceği düşünülmektedir. Örneğin, tamoksifen (TAM) meme kanserinde sıklıkla kullanılan ilaçlardan bir tanesidir, etkisini endojen östrojen aktivitesini bloke ederek göstermektedir (Horner-Glister E1, 2005). Tamoksifenin etkin metaboliti olan endoksifene dönüşümü, CYP 2D6 enzimi yoluyla katalizlenmektedir. Endoksifen konsantrasyonu, CYP 2D6 genetik polimorfizminden dolayı kişiler arasında çeşitlilik göstermektedir. Bu varyasyonlar sebebiyle, meme kanser hastalarının tedavi yanıtında olumsuz sonuçlar ile karşılaşılabilir.

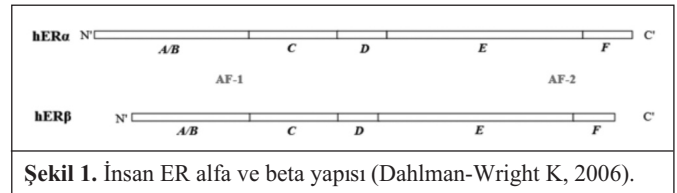
Östrojen

Kadınlarda yer alan endojen östrojenler, steroid yapıda hormonlardır ve bu hormonlar kolesterolden çok basamaklı enzimatik yollar üzerinden sentez edilmektedir. Aromataz enzimi, biyotransformasyonu katalizleyen en önemli enzimlerden bir tanesidir. Östrojenler içerisinde, 17-beta östradiol (E2) en güçlü kadın hormonudur. Premenaposal kadınlarda, östrojenler primer olarak ovaryumlarda üretilmektedir. Tersine, postmenaposal kadınlarda ovaryumlar östrojenin salgılanmasını durdurarak östrojenin serum konsantrasyonunun büyük ölçüde azalmasına neden olmaktadır. Postmenaposal kadınlarda bu durumun sonucu olarak meydana gelen östrojen eksikliği, sıklıkla postmenaposal semptom-

ların meydana gelmesine sebep olmaktadır. Bu semptomlar kapsamında; osteoporoz, koroner kalp hastalıkları ve Alzheimer hastalığının riski artışı gösterilebilir (Mendelsohn ME 2005; Cauley JA 1995; Mora S 2001; Riggs BL 2002; Sherwin BB 2002). Diğer taraftan, gittikçe artan östrojen maruziyetinin ise kadınlarda reproduktif kanserlerin gelişimini destekleyebileceği düşünülmektedir. Örnek olarak; hormon replasman terapisi, erken adet görme, menarş ve geç menapoza girme ile ilişkilendirilen meme ve uterus kanserleri gösterilebilir (Feigelson HS; 1996). Östrojen fizyolojik ve patolojik yollarla olan ilişkisini, östrojen reseptörlerine (ER) bağlanarak gerçekleştirmekte ve östrojen yanıtıyla ilişkili (responsive) genlerin transkripsiyonlarını aktive etmektedir (Korach KS, 2000).

Östrojen reseptörleri (ER)

ER'ler nükleer reseptör ailesi içerisinde yer almakta ve östrojen hedef hücrelerin nükleusunda lokalize olmaktadır. ER'ler, iki alt tipi olan ER alfa ve ER beta izoformu şeklinde eksprese edilmektedir (Green S, 1986; Kuiper GG, 1996). ER alfa izoformu primer olarak meme ve uterus dokusunda eksprese olmaktadır. ER alfa meme kanserinin başlaması ve ilerlemesiyle ilişkilendirilmesinden ötürü meme kanserinin önlenmesi ve tedavisi açısından büyük önem arz etmektedir. Meme kanser hücrelerinin, normal meme epitelyal hücrelerine kıyasla ER alfa düzeylerinin oldukça yüksek olduğu rapor edilmiştir (Ricketts D, 1991; Leygue E, 1998). Ayrıca, ER alfa ekspresyonunun benign meme epitelyumundaki artışı ile meme kanser risk artışı arasında bir bağlantı olduğu da tespit edilmiştir (Ali S, 2000; Khan SA; 1998). ER'ler beş fonksiyonel domain yapısı içermektedir. Bunlar; N terminal A/B domaini, DNA bağlanma domaini (DBD; C), menteşe domaini (D), ligant bağlanma domaini (LBD; E) ve C-terminal F domain yapılarıdır (Şekil 1). ER alfa ve beta homolog genler tarafından kodlanmakta, bunların sekansları amino asit düzeyleri açısından yüksek düzeyde benzerlik göstermektedir. Özellikle DBD ve LBD'leri arasındaki benzerlik düzeyi sırasıyla; %97 ve %56'lık bir oran göstermektedir (Dahlman-Wright K, 2006).



Şekil 1. İnsan ER alfa ve beta yapısı (Dahlman-Wright K, 2006).

DBD, spesifik östrojen yanıt (response) elementlerine bağlanmakta ve transkripsiyonel aktivasyon domain 1 ve 2 (AF-1 ve AF-2) aracılığıyla gen transkripsiyonu, ligant bağımlı veya bağımsız tarzda gerçekleşmektedir (Dahlman-Wright K, 2006). AF-2 aracılığıyla ligant bağımlı tarzda mey-

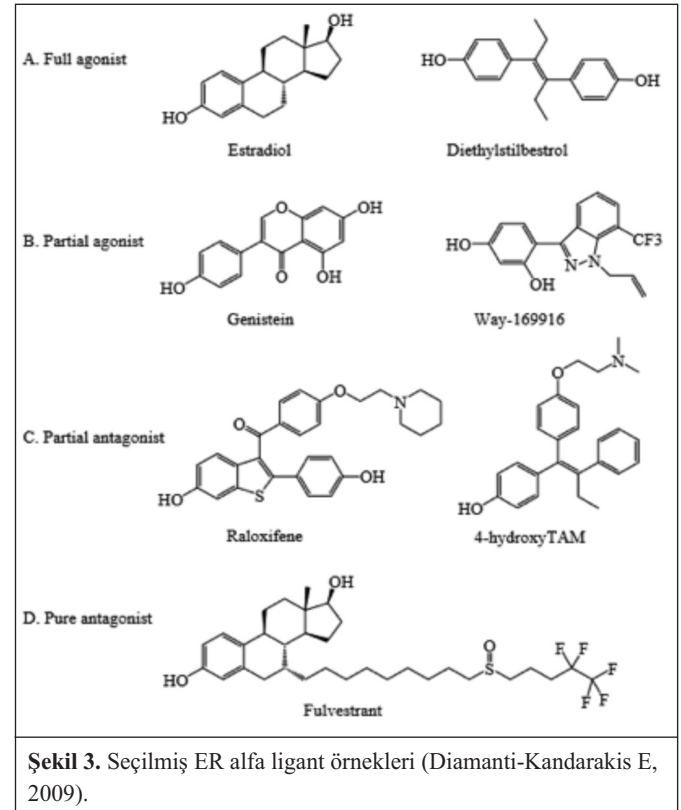
dana gelen gen transkripsiyonu, küçük molekülü ligantlar yoluyla östrojene duyarlı genlerin ekspresyonuna müdahale etmeyi mümkün kılmakta ve bu sayede östrojenle ilişkili hastalıklarda ER sinyalinin aktive olması veya baskılanması sağlanabilmektedir (Dahlman-Wright K, 2006). Bu konuyla ilişki çok sayıda çalışma yapılmakta ve bu çalışmalar yoluyla özellikle ER alfa ligantlarının ve LBD'nin biyolojik yapısı aydınlatılmaya çalışılmaktadır. ER alfa ligantlarının, LBD komplekslerinin kristalografik yapıları 1990'ların sonlarında belirlenmeye başlanmış, ER'nin 100'e yakın LBD yapısı RCSB Protein Data Bankasında (PDB) kaydedilmiştir. LBD hakkında yapılan geniş çaplı araştırmalar yoluyla, endojen steroid hormonların yanında çok çeşitli eksojen bileşiklerinde LBD'ye bağlanma özelliğinin bulunduğu rapor edilmiştir. ER alfa LBD komplekslerinin ligantlarının agonist veya antagonist konformasyonları, C terminal Heliks 12 (H12) yapıları baz alınarak olarak sınıflandırılmaktadır. H12, dinamik esnekliğin derecesinin göstermektedir (Şekil 3) (Shiau AK, 1998; Brzozowski AM, 1997). H12, agonist konformasyonda bağlanma bölgesini kapatmaktadır. Bu durumda; koaktivatör bağlanması ve ligant-ER alfa kompleksinin dimerizasyon prosesi mümkün hale gelerek, transkripsiyon ünitesi oluşmakta ve bu yolla gen ekspresyonu ve hücre proliferasyonu tetiklenmektedir (Şekil 2A) (Shiau AK, 1998, Brzozowski AM, 1997). Bu kapalı/agonist konformasyon aktif konformasyon olarak bilinmekte ve LBD'nin E2 ve agonist ligantlarla kompleks yaptığı durumlarda meydana gelmektedir. Tersine, antagonistlerin agonistlere göre hantal/büyük kuyrukları bulunmakta, agonistlerde olduğu gibi LBD'nin hep aynı bölgesinden bağlanma özelliği göstermektedir (Shiau AK, 1998, Brzozowski AM, 1997). Ayrıca antagonistler, H12'yi açık/antagonist konformasyonunun oluşumu yönünde yönlendirmekte ve bu vasıta koaktivatör bağlanma oluşunu işgal etmektedir (Şekil 2B). Koaktivatör bağlanması, açık/antagonist-LBD yoluyla bloke olmakta ve ER aracılı transkripsiyon durmakta veya yavaşlamaktadır (Shiau AK, 1998, Brzozowski AM, 1997). Açık/antagonist LBD, kapalı/agonist LBD'ye göre tamamen inaktif olmasa da; inaktif konformasyon ola-

rak bilinmektedir. Bu bilgilerin yanısıra; H12'nin oryantasyonu ligand yakalamasıyla düzenlenmekte ve ligant molekülüne bağlı olarak kapalı/agonist veya açık/antagonist LBD oluşumları meydana gelmektedir.

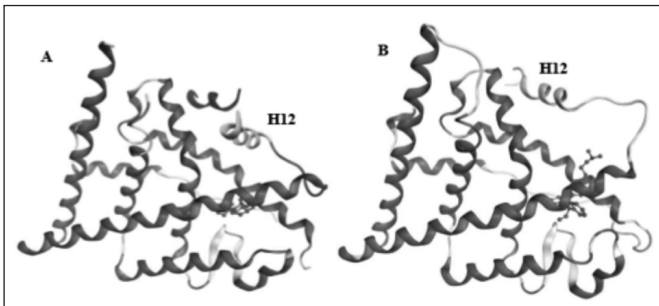
ER Alfa Ligantları

Steroid hormonlar dışında sayısız endojen bileşiğin ER alfa'ya bağlanma kabiliyeti bulunmaktadır. Bunun ana nedeni ise LBD domain yapısının çok yönlü bağlanma özelliğinden kaynaklanmaktadır. Fakat bu ligantların yapıları birbirlerinden oldukça farklı olmasından ötürü antiöstrojen ve/veya östrojene benzer özellikler gösteren sonuçlar meydana gelmektedir (Diamanti-Kandarakis E, 2009). Fonksiyonel aktivitelerdeki farklılıklar sebebiyle, genel olarak ER alfa ligantları; full agonistler, kısmi agonistler, kısmi antagonistler ve saf antagonistler olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır (Şekil 3).

Full ve kısmi agonistler, ER alfa LBD yapısını, kapa-



Şekil 3. Seçilmiş ER alfa ligant örnekleri (Diamanti-Kandarakis E, 2009).



Şekil 2. Kapalı/agonist E2-ERα LBD kompleks (A, 1GWR28) ve açık/antagonist TAM ERα LBD kompleks (B, 3ERT26), H12 yeşil veya cam göbeği, koaktivatör ise mavi renkle gösterilmiştir (Shiau AK, 1998, Brzozowski AM, 1997).

lı /agonist konformasyonda stabilize etmektedirler (Şekil 3A). E2 kadınlardaki en güçlü hormondur ve deneysel çalışmalarda sıklıkla full agonist standartı olarak kullanılmaktadır. Dietilstilbestrol (DES) sentetik full agonist olarak bilinmekte, özellikle hamile kadınlarda kullanımının çocukta oluşabilecek birçok olumsuz etkiden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (O'Reilly EJ, 2010; Giusti RM, 1995). Kısmi agonistlerin biyoaktivite profilleri, agonist/antagonistlerin karışık özelliklerinden dolayı anlaşılması oldukça zordur. Kısmi agonist özelliği gösteren, Fi-

toestrojen genistein (GEN) adlı besinin tüketiminin meme kanser gelişim riskini azalttığı rapor edilmiştir (Wari A, 2008; Messina MJ 1994). Bununla birlikte, GEN'nin bazı deneylerde meme kanser hücre büyümesini stimüle ettiği de rapor edilmiştir (Matsumura A, 2005; Ju YH, 2006). Way-169916 (W) zayıf kısmi agonist sınıfına dahil edilmekte, transkripsiyonel aktivasyonundaki bilinen klasik agonist etkisinden ziyade geniş antiinflamatuvar aktivitesi göze çarpmaktadır (Booth EA, 2007; Keith JC, 2005; Chadwick CC, 2005). Kısmi agonistlerin; transkripsiyonel aktivasyon kapasitesini azaltmalarının yanısıra, deneysel olarak LBD'lerinin kokristalize edilmesi full agonistlere göre oldukça zordur (Bruning JB, 2010; Manas ES, 2004). Full veya kısmi agonistlerin tersine, kısmi antagonistler ER alfa LBD'yi açık/antagonist konformasyon durumunda stabilize etmektedir. En iyi bilinen örnekleri içerisinde; raloxifene, tamoksifen ve tamoksifenin en önemli aktif metabolitlerinden biri olan 4-hidroksi TAM (OHT) yer almaktadır. Bu bileşiklerin doku spesifik olarak, hem antiöstrojenik hem de östrojene benzer etki mekanizmaları bulunmakta ve bu sınıftaki üyeler selektif östrojen reseptör modülatörleri (SERMs) olarak adlandırılmaktadır (Riggs BL, 2003). SERM'lerin bazı dokularda östrojene benzer etkileri bulunmakta ve meme kanser oluşumundan sorumlu tutulmaktadır. Bunun yanısıra, östrojenin eksikliğinin postmenoposal kadınlardaki ileri boyuttaki değişikliklerden sorumlu olabileceği de düşünülmektedir. Bu sebepten, ideal SERM sınıfı bileşiklerinin profilleri, ilaç gelişimi açısından da dikkat çekici bir gruba temsil etmektedir. Kısmi antagonistlerin ligant molekülleri, açık/antagonist-LBD konformasyonunun stabilizasyonu açısından görünür bir farklılık arzetmemektedir. Buna rağmen ligant yapılarında küçük veya göze çarpmayan farklılıklar, biyoaktivitelerinde (agonistik ve/veya antagonistik) önemli değişikliklerin oluşumuna neden olabilmektedir (Blizzard TA, 2005). Bunun anlamı, bileşiklerin ligant-LBD komplekleri açısından benzer kristal yapılarının bulunduğu fakat ER sinyallerindeki farklılığın ise halen tam olarak anlaşılmadığı yönündedir. Zayıf antagonistler ise SERM'lerden farklı fakat kısmi antagonistlere benzer tarzda ER alfaya bağlanmak için kompetitif olarak yarışmakta ve tüm dokularda antiöstrojenik etkileri bulunmaktadır. Saf antagonistlerin mekanizması; ER düzeylerinin downregülasyonunun ve dimerizasyonunun inhibisyonu şeklinde tanımlanmakta ve sonuç itibarıyla ligant-ER alfa kompleksi 'transkripsiyonun başlama ünitesi' olarak görev alamamaktadır. Saf antagonistlerden fulvestrant meme kanser hastalarında TAM terapiden yarar göremeyenlerde kullanılmaktadır (Johnston SJ1, 2010).

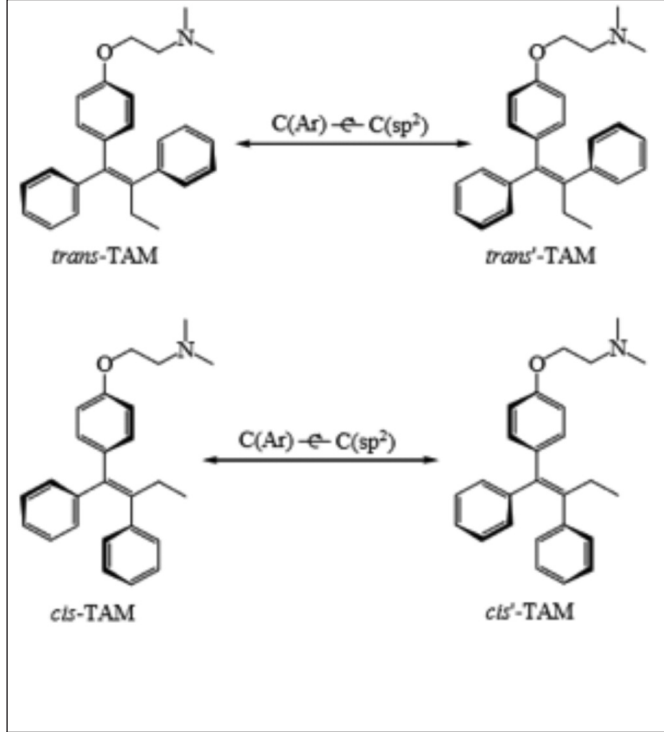
Endokrin Terapi

Endokrin terapi hormon terapisi olarak da adlandırılmaktadır. Bu tedavi şeklinde hormonlar eklenmekte, bloklanmakta veya ortadan kaldırılmaktadır. Meme kanserinin varlığında, ER pozitif meme kanser hücre proliferasyonu östrojenler yoluyla stimüle olmaktadır. Meme kanserinde uygulanan hormon terapisi aslında bir antihormon tedavisidir. Bu tedavi protokolünde tümör büyümesi ve gelişimi, ER alfa'nın endojen östrojene bağlanması önlenerek baskılanmaya çalışılır, çünkü tümör hücrelerinin büyüme gereksinimleri bulunmaktadır. Endokrin terapide çok farklı stratejiler kullanılmaktadır. Bu duruma örnek olarak, premenoposal kadınlarda sirküle östrojen seviyesinin azalmasına neden olan ovaryumların cerrahi olarak çıkarılma işlemi olan ooferektomi verilebilir. Bu cerrahi işlem meme kanser hastalarında ER alfa'nın keşfinden önce uygulanmakta ve meme kanser hücrelerinin östrojene olan cevap verme yeteneği ile ilişkilendirilmektedir. Kolay ve koruyucu cerrahi uygulamalar ve yaklaşımlar arasında; adenalektomi, hipofizektomi ve östrojenle stimüle olan kanser hücre proliferasyonunu bloke eden ilaçlar kullanılmaktadır. Farklı mekanizmalara dayanan bu ilaçlar, östrojen antagonisti olarak östrojenin ER alfa'ya bağlanmasını engellemekte veya direkt olarak östrojenin biyosentetik prosesini bloke etmektedir. TAM tedavisi en sık kullanılan yaklaşımlar arasında yer almakta, ER alfa'ya bağlanmak için kompetitif olarak yarışmakta, böylece meme dokusunda östrojen antagonisti olarak fonksiyon göstermektedir. Diğer bir yaklaşımda, aromataz inhibitörleri (AI'lar)'dir, bu grup östrojen üretimindeki dönüşümü katalize eden aromataz enzimini inhibe etmektedir (Dodwell D1, 2005).

Tamoksifenin (TAM) Kimyasal Yapısı

Meme kanseri hastalarından östrojen reseptörü pozitif postmenoposal kadınlarda tamoksifen en sık kullanılan ilaçlardan biridir. TAM (ICI 46,474) 1960 yılında, ilaç şirketlerinden ICI (AstraZeneca) tarafından ilk defa sentez edilmiştir. 1970'lerde ise bu ilacın eski marka adı Nolvadex olarak isimlendirilmiş ve meme kanserinin ilk tedavi protokolünü oluşturmuştur. 1973'de meme kanser tedavisi üzerine ilk defa piyasaya sürülmüş ve tedavi sürecindeki uygunluğu ve hastalığı önlediği 'Food and Drug Administration' (FDA) tarafından 1977 ve 2007 yılları arasında onaylanmıştır. Günümüzde ise bu ilaç halen yaygın olarak kullanılmaktadır (C. Kalyana Kumar). Metastatik meme kanserinde, kadınların %30'u tamoksifen terapisine yanıt vermektedir (Osborne CK, 1998). Kadınlardan östrojen reseptörü pozitif meme kanseri hastalarından tamoksifen kullananlarda meme kanserinin görülme sıklığı 5 yıl azalan bir oran göstermekte, tamoksifen kullanmayanlara göre önemli ölçüde ölüm oranı düşüş göstermektedir (Osborne CK, 1998). Şekil 4'de tamoksifenin kimyasal yapısı gösterilmiştir.

tir. Cis izomerinden ziyade trans izomeri meme kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır. TAM'ın çekirdek yapısını triariletlen oluşturmakta, etilen aynı kökten türemiş moleküler bir ağ gibi 3 aromatik halka ile çevrenmektedir (Şekil 4) (Precigoux G, 1979).



Şekil 4. Tamoksifenin yapısı (Precigoux G, 1979).

Meme Kanseri Tedavisinde Tamoksifenin Yeri

Meme kanseri tedavisinde TAM, klinik olarak kullanılan ilk SERM sınıfı üyesidir. SERM profilinin en önemli niteliği, doku spesifik olarak östrojen agonist ve antagonist karışımı fonksiyon göstermesidir. TAM'ın etki mekanizmasını kısaca özetleyecek olursak;

- Meme dokusundaki antiöstrojenik etkileri; meme kanseri tedavisinde tümör oluşumuna karşı koruyucu etki göstermesi ve meme kanserinin tekrar görülme riskini azaltması.
- Kardiyovasküler sistemde östrojenik etkileri; kalp hastalıklarını azaltması ve kolesterolün serum konsantrasyonunu indirmesi.
- Kemikteki östrojenik etkileri; postmenapozal kadınlarda kemik dansitesini artırarak kemik kırıklarının oranını azaltması.
- Uterus dokusunda östrojenik etkileri; endometrial kanser riskini artırması ve endometrial kalınlığı artırması.
- TAM'ın yan etkileri arasında en sık görüleni menopozal semptomlardır. Bu semptomlara örnek olarak; TAM'ın antagonist etkisi sebebiyle, östrojen yokluğundan meydana gelen sıcak basmaları ve atrofik vaginitis gösterilebilir. Diğer yan etkiler arasında, katarakt ve tromboembolik hastalık riskinin hafif artışı söylenebilir (Osborne CK, 1998).

ne CK, 1998).

TAM meme kanserinin nüks etmesini ve ölüm riskini, yararlı etkisini kemik ve kardiyovasküler sistem üzerinde göstererek önemli derecede azaltmaktadır (Clarke M, 1998). Endometrial kanser görülme sıklığını azda olsa arttırabilmesinin yanısıra önemli bir yan etkisi bulunmamaktadır. Radyasyon veya kemoterapi gibi diğer kanser terapileri ile kıyaslandığında, TAM terapisi spesifik olarak ER alfa sinyal yolağını hedef almakta, normal hücrelere ve dokulara zarar vermemekte ve böylece daha az/ılımlı yan etkilerin oluşumuna neden olmaktadır. Bu ilaç yan etkilerinden ziyade yararları sebebiyle meme kanser hastalarında sıklıkla kullanılmaktadır (Osborne CK, 1998, Clarke M, 1998).

Tamoksifenin in Vivo Metabolizması

Tamoksifen Faz I ve Faz II reaksiyonları üzerinden katalizlenmekte ve bu süreç bireyler arasında, hastaların bu metabolik enzimlerin farklı genotiplerini taşımalarından ötürü önemli derecede değişkenlik göstermektedir. Sonuç olarak, hastalar arasında TAM ve tamoksifenin metabolitlerinin plazma düzeyleri büyük ölçüde farklılık göstermektedir. TAM'ın Faz I reaksiyonları, CYP 450 enzimleri tarafından katalizlenen oksidasyon reaksiyonlarından oluşmakta ve bu reaksiyonlar sonucunda aktif ve toksik metabolitler meydana gelmektedir (Jin Y, 2005; Desta Z, 2004; Potter GA, 1994). Konjugasyon reaksiyonları olarak bilinen Faz II reaksiyonları yoluyla, Faz I ürünleri fonksiyonel polar gruplar ile bir araya getirilerek ilaç eliminasyonu kolaylaştırılmaktadır. TAM'ın ve metabolitlerinin konjugasyonu en sık sulfotransferaz (SULT) ve UDP-glukoroniltransferaz (UGT) enzimlerinin katalizi yoluyla gerçekleştirilmektedir. Hastalarda Faz I ve Faz II reaksiyonlarına katılan enzimlerdeki genetik varyasyonlar, TAM ve metabolitlerinin plazma düzeylerini etkileyebilmektedir. Enzim genotiplerinin, TAM terapisinin klinik yanıtını etkilemesinden ötürü, son 10 yıldır TAM terapisiyle alakalı çalışmalar oldukça ilgi çekmektedir (Jin Y, 2005; Desta Z, 2004; Potter GA, 1994).

Tamoksifenin Metabolik Yolakları

Tamoksifen ön ilacı insan karaciğerinde yaygın olarak metabolize edilmekte ve baskın olarak CYP450 enzim sistemiyle primer ve sekonder metabolitlerine dönüştürülmektedir. Tamoksifen CYP450 aracılı Faz I reaksiyonları yoluyla gerçekleşen biyotransformasyonu hem ilaç klirensi hem de kendi aktif metabolitlerine dönüşümü açısından oldukça önem arz etmektedir. Birbiri ardısıra gerçekleşen biyotransformasyon reaksiyonları arasında; CYP aracılı N-demetilasyon, 4-hidroksilasyon ve alfa-hidroksilasyon reaksiyonları yer almakta ve bu tepkimelerin akabinde aktif veya toksik metabolitler meydana gelmektedir (Jin Y, 2005; Desta Z, 2004; Potter GA, 1994). Primer metabolitler arasında; N-didesmetil-TAM (NDT), alfa-hidroksi-TAM yer almakta ve

bu metabolitler TAM'ın direkt oksidasyonu yoluyla oluşmaktadır. Bu metabolitler daha ileri oksidasyon basamakları yoluyla, sekonder metabolitlere dönüşmekte ve bu sekonder metabolitler arasında ise; endoksifen ve alfa-hidroksi-NDT yer almaktadır. TAM'ın biyotransformasyon sürecine çeşitli CYP izoformları katılmaktadır. Bunlar arasında; CYP 1A2, CYP 1B1, CYP 2B6, CYP 2C9, CYP 2C19, CYP 2D6, CYP 3A4, CYP 3A5 ve CYP 3A4 sıralanabilir. CYP 1B1, OHT'nin cis-trans izomerizasyonunu katalizlemekte ve TAM terapisine karşı direnç gelişimiyle ilişkilendirilmektedir (Boocock DJ,2002; Potter GA, 1994; Jin Y, 2005). CYP 3A4/5 ve CYP 2D6 ise tamoksifenin öne çıkan rollerinde görev almaktadır. CYP 3A4, yetişkin insanlarda en fazla bulunan izoform özelliği göstermektedir. CYP 3A4'ün klinik olarak önemli bir polimorfizmi bulunmamakta, N-demetilasyon ve alfa-hidroksilasyon reaksiyonlarını katalizlemektedir. CYP 3A5 ise N-demetilasyon basamağını katalizleyerek N-desmetil-TAM (NDT) oluşumuna aracılık etmekte ve NDT en yaygın in vivo bulunan metabolit özelliği göstermektedir (Şekil 5) (Boocock DJ, 2002; Potter GA, 1994; Jin Y, 2005). En önemli major primer metabolit olan N-desmetiltamoksifen, CYP 3A4/5 aracılı metabolize olmakta ve primer TAM oksidasyonunun %90'ından sorumlu tutulmaktadır. Halbuki 4-hidroksitamoksifen CYP 2D6 aracılı metabolizmayla meydana gelmekte ve minor metabolit özelliği bulunmaktadır (Desta, Z., 2004). Bununla birlikte 4-hidroksitamoksifen; TAM ve N-desmetiltamoksifene kıyasla 30-100 kat aralığında değişen güçlü antiöstrojen aktivitesine sahiptir (Jordan, V.C., 1977). N-desmetiltamoksifen başlıca CYP 2D6 enzimi yoluyla daha ileri okside olarak 4-hidroksi-N-desmetiltamoksifen (endoksifen) katalizlenmektedir (Johnson, M.D., 2004; Lim, Y.C.,

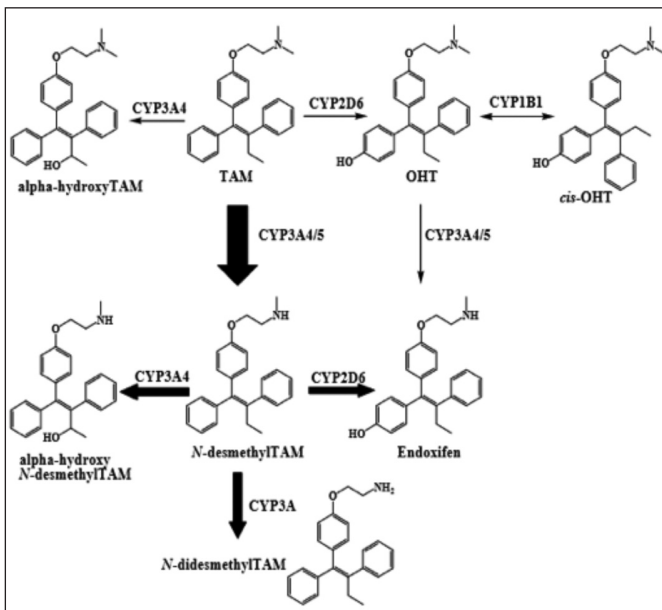
2005; Lim, Y.C., 2006).

Endoksifen, TAM tedavi etkinliğinden sorumlu ana metabolit olma özelliği göstermekte, 4-hidroksitamoksifenle, östrojen bağımlı hücre proliferasyonu, ER alfa ve ER beta'ya bağlanma özelliği ve östrojen aracılı gen ekspresyonunu modüle etme karakteri açısından benzer özellik göstermektedir (Johnson, M.D., 2004; Lim, Y.C., 2005; Lim, Y.C., 2006). Bu bilgilerin yanısıra, standart dozda TAM alan kadınlarda endoksifenin normal koşullarda serumdaki konsantrasyonu 4-hidroksitamoksifene kıyasla 10 kat daha yüksektir (Stearns, V., 2003). Bunun yanısıra, endoksifen ER alfa protein düzeylerini ER'nin proteozomal olarak degradasyona hedeflenmesiyle düşürmektedir. Halbuki TAM ve 4-hidroksitamoksifen meme kanser hücrelerinde ER alfa'yı stabilize etmektedir (Wu, X., 2009). İlginç olarak, endoksifenin bu etkisini konsantrasyon bağımlı olduğu gösterilmiştir (Zanger, U.M., 2008).

Tamoksifen ve CYP 2D6 Enziminin İlişkisi

Adjuvan TAM ile tedavi edilen hastaların yaklaşık 1/3'ü, cerrahi operasyon sonrasındaki 15 yıl içerisinde hastalığın nüks etmesiyle karşı karşıya kalmaktadır (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG)). Bunun yanısıra, tedavi yanıtı açısından bireyler arasında büyük ölçüde çeşitlilik bulunmaktadır. Hastalar arasında tamoksifenin yararlarının veya yan etkilerinin tahmin edilmesi oldukça güçtür. Güncel verilerde, TAM etkinliğinin büyük ölçüde biyotransformasyonuna bağlı olduğu ve bu biyotransformasyonunda baskın olarak CYP 2D6 izoformu yoluyla gerçekleştiği gösterilmiştir. Tamoksifen Faz I biyodönüşüm enzimlerinden CYP 2D6 enzimi yoluyla etkin metaboliti olan endoksifene dönüşmekte ve ER alfa 26S proteozomlarda degrade olmaktadır. Bu degradasyonla da östrojen yoluyla stimüle olan meme kanser hücrelerinin proliferasyonu bloke olmaktadır (Wu X1). Endoksifen, tamoksifene göre ER'ye daha güçlü bir affinite ile bağlanmakta ve benzer yapıdaki ilaçlara göre daha güçlü bir antiöstrojen özelliği göstermektedir. CYP 2D6'nın aktivitesi genetik varyasyonlar yoluyla büyük ölçüde değişkenlik göstermekte ve tamoksifenin eş zamanlı olarak CYP 2D6 inhibitörleri ile birlikte reçetelemesi de aktivitesini etkileyebilmektedir (Jin, Y., 2005).

CYP 2D6 geni 22 kromozomun 13. kısa kolu üzerinde yer almaktadır (Kimura, S., 1989). CYP 2D6 geni son derece polimorfik olmasının yanısıra etnik gruplar arasında allel frekansları da oldukça farklılık göstermektedir. CYP 2D6'nın 100'ün üzerinde allelik varyantı tanımlanmış ve bu varyantlar artan, azalan veya enzim aktivitesinin yitilmesiyle ilişkilendirilmiştir (<http://www.cypalleles.ki.se>). CYP 2D6 polimorfizmi; enzim aktivitesindeki değişikliklerin açısından 4 gruba ayrılmaktadır; Yavaş metabolizörler (poor metabolisers; PM), orta-hızlı metabolizörler (Intermediate metabolisers; IM), hızlı metabolizörler (extensive metabolisers;



Şekil 5. Tamoksifenini en önemli metabolik yolları ve bu biyotransformasyona aracılık eden en önemli CYP izoformları (Boocock DJ,2002; Potter GA, 1994; Jin Y, 2005; Desta Z, 2004).

EM), çok hızlı metabolizörler (ultra rapid metabolisers; UM) (Jann MW, 2001). EM fenotip çoğu populasyonda ekspres edilmekte ve normal aktivite gösteren olarak ifade edilmektedir. PM CYP 2D6'nın iki alleli bakımından kalıtsal olarak eksik tiptir, bu yüzden ilaçları düşük oranda metabolize etmektedirler. Bu yolla metabolize edilemeyen ilaçların yüksek seviyede birikimlerine neden olmaktadır. UM fenotip ise CYP 2D6 aktif geninin duplikasyon veya amplifikasyonu yoluyla oluşmaktadır. UM genotipli bireyler ilaçları ultra hızda metabolize ederler, standart dozlarda bu yüzden terapötik verim elde edilememektedir. IM fenotip CYP 2D6 alleli bakımından heterozigotlara verilen isimdir, bu fenotip PM fenotipe göre aktivitesi oldukça yüksektir (Mayer UA, 2004). Kafkaslar arasında bireylerin yaklaşık %7-10 arası PM, %10-15 arası IM ve %10-15'i ise UM aralığında bulunmaktadır (Brauch, H., 2009). Artan enzim aktivitesi gen duplikasyonu yoluyla, azalan/hiç bulunmayan CYP 2D6 allel aktivitesi ise; delesyon, stop kodon veya splicing defekti sebebiyle meydana gelmektedir. En sık görülen varyant alleller arasında; CYP 2D6*4 (Kafkaslarda; %12-21), CYP 2D6*5 (farklı populasyonlarda; %2-7), CYP 2D6*10 (%50 den fazla Asyalılarda, %3-9 Afrikalılarda) ve CYP 2D6*17 (%20-35 Afrika ve Afrikalı-Amerikalılarda) bulunmaktadır (Bradford, L.D., 2002, Ingelman-Sundberg, M., 2005; Rodriguez-Antona, C., 2006). Son yıllarda, TAM adjuvant terapisinin klinik faydası üzerine CYP 2D6 varyasyonlarının etkisini değerlendiren çok sayıda farmakogenetik çalışma gerçekleştirilmiştir. Fakat bu çalışmalarda birbirleriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir.

CYP 2D6 Genetik Polimorfizmi ve Hastalıklara Yatkınlık

CYP 2D6 polimorfizmi çeşitli hastalıklara olan yatkınlık açısından incelenmektedir. Bunlar arasında çeşitli tipteki kanserler, Parkinson, Sistemik lupus eritematozus, pituitary adenomalar, Balkon nefropati, anklozan spondilit yer almaktadır (Lennard MS, 1990; Mayer UA, 1990.) CYP 2D6 yoluyla prokarsinojenlerin metabolik aktivasyonu gerçekleşebilmektedir. CYP 2D6 genotipi açısından PM veya IM (homozigot veya heterozigot varyant) taşıyıcılarında zayıf veya hiç enzim aktivitesi bulunmamaktadır. Bunun yanı sıra; EM fenotipine sahip hastalar daha çok karsinojeni metabolize ederek bunları genotoksik metabolitlerine dönüştürebilmekte ve yüksek oranda aktif bileşik oluşumu yoluyla kanser gelişimi açısından daha yüksek risk grubunda oldukları söylenebilmektedir (Kroemer HK, 1995; Wegman P, 2005). Böylece yüksek enzim aktivitesi olası bir şekilde DNA hasar oranını arttırmakta ve meme kanser riskini de bu yolla etkileyebilmektedir (Achraf Khedhaier, 2008). CYP 2D6 geni bilinen insan karsinojenlerin metabolizmasından sorumludur. Bunlar arasında; nitrozamin ve nikotin, endojen substratları arasında ise triptamine gibi iyi bilinen nö-

roaktif aminler yer almaktadır (Kelsey KT, 1997). Bu bilgilerin yanısıra; CYP 2D6 allelik varyantları ile kanser arasındaki bağlantıyı inceleyen ve farklı sonuçlar elde eden birçok çalışma bulunmaktadır (Christensen, 1997; Wolf CR, 1994). CYP 2D6 polimorfizm, çok çeşitli insan kanser türleri ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar arasında akciğer, meme, deri, prostat kanserleri yer almaktadır (C. Kalyana Kumar). Özellikle, alternatif splicing varyantları ekstraheptik dokulardaki CYP 2D6 ekspresyonunu ve fonksiyonunu etkilemekte ve CYP 2D6'daki bu değişiklik kanser riskinin oluşuma yol açabilmektedir. (C. Kalyana Kumar).

CYP 2D6 Genetik Polimorfizmi ve Tamoksifen Terapisi

Çok sayıdaki CYP 2D6 polimorfizmi düşük frekansa sahip olmasına rağmen enzim aktivitesinin indirgenmesine veya azalmasına sebep olmakta ve yaygın olarak bireyler arası varyasyonlara katkısı bulunmaktadır. CYP 2D6 aktivitesi ilaçlar tarafından inhibe edilebilmekte, sonuç olarak önemli ilaç-ilaç etkileşimlerine ve bu yolla teröpotik başarısızlıklara yol açabilmektedir (Lynch, T., 2007). Prospektif çalışmalarda, CYP 2D6 genotipinin invivo endoksifen oluşumu açısından oldukça önemli olduğu gösterilmiştir. Bir çalışmada, 80 adet yeni meme kanser teşhisi konarak TAM adjuvant tedavisine başlanmış hastada, 4 ay sonra endoksifenin plazma konsantrasyonunun nonfonksiyonel CYP 2D6 alleleri açısından heterozigot veya homozigot olanlarda iki fonksiyonel allel taşıyanlara kıyasla daha düşük olduğu rapor edilmiştir (Jin, Y., 2005). Bunun yanı sıra bu çalışmanın devamında güçlü CYP 2D6 inhibitörleri kullanan bireylerde endoksifenin plazma konsantrasyonunun % 58 oranında azaldığı da tespit edilmiştir. Adjuvan tamoksifen tedavisi alan 202 metastatik meme kanserine sahip Koreli kadında gerçekleştirilen farmakokinetik çalışmada, IM allellerine sahip bireylerdeki endoksifen plazma konsantrasyonunun normal metabolizör genotipe sahip olanlara kıyasla 2 kat düşük olduğu saptanmış ve tamoksifen aktivasyonunun IM'lerde hasara uğradığı fikri desteklenmiştir (Lim, H.S., 2007). Bunun yanı sıra çok farklı çalışmada da, CYP 2D6 genotipi ile inhibitörleri arasında endoksifenin plazma konsantrasyonu açısından bir ilişki olduğu fikri destek görmüştür (Borges, S., 2006; Stearns, V. 2003).

CYP 2D6 metabolizör durumu ve tamoksifen yanıtı arasındaki bağlantıyı gösteren farklı bir çalışma, Goetz ve arkadaşları tarafından 2005 yılında 223 tamoksifenle tedavi edilen ER pozitif postmenoposal hastada, North Central Treatment Group Trial 89-30-52'ye kaydolun hastalar arasında değerlendirilmiştir (Goetz, M.P., 2005). Düşük aktivite gösterenlerin total frekansı göz ardı edilerek, sadece CYP 2D6*4 ve CYP 2D6*6 varyant alleleri çalışmaya dahil edilse de, yazarlar CYP 2D6*4 allelinin hastalığın kötüye gidişatı açısından artan risk oluşturduğunu fakat CYP 2D6*4

allelinin postmenapozal dönemdeki kadınlarda görülen sıca basmalarını ise azalttığını kaydetmişlerdir. Ortalama 11,4 yıl takip edilen CYP 2D6*4/*4 varyant genotipi açısından homozigot olan kadın hastalarda hastaliksız geçen yaşam ömrüyle ilgili bulguların kötüleştiği fakat toplam yaşam uzunluğunun heterozigot ve homozigot wild tip hastalarla kıyaslandığında tek değişkenli analizlerde değişmediği gözlenmiştir. Bununla birlikte, CYP 2D6*4/*4 genotipine sahip kadınların büyük bir oranının nodül pozitif hastalık taşıyıcıları olduğu saptanmıştır. Aynı çalışma popülasyonuna sahip grupta CYP 2D6 genetik varyasyonunun yanısıra CYP 2D6 inhibitörleri ile eş zamanlı tedavinin, tamoksifen olan postmenapozal meme kanseri kadınlarda meme kanser sonucu açısından bağımsız tahmin edici bir faktör olarak kullanılabilirliği vurgulanmıştır (Goetz, M.P., 2007).

2008 yılında San Antonia Breast Cancer Sempozyumunda NCCTG 89-30-52 trial tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, uzun süreli takip edilen hastalarda, CYP 2D6 *3, *5, *10, *17 ve *41 allelleri değerlendirilmiş ve PM'lerin istatistiksel olarak hastalığın nüks etmesi açısından önemli bir risk faktörü olabileceği öngörülmüştür (Goetz, M.P., 2008). Birbirini takip eden araştırmalarda, CYP 2D6 genotipi ile tamoksifen ile tedavi edilen hasta sonuçları arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmalardan beş tanesi Goetz'ün ilk bulguları ile bağdaşırken bir tanesinin bu bulguları desteklemediği iki tanesinde belirgin olarak TAM ile tedavi edilen PM genotipli bireylerde daha iyi sonuçlar alındığına dair bu durumun tam ters etki mekanizmasının savunan bulgular rapor edilmiştir (Schroth, W., 2007; Newman, W.G., 2008; Bijl, M.J., 2009; Gonzalez-Santiago, S., 2007; Ramón, y Cajal, T., 2010, Nowell, S.A., 2005; Wegman, P., 2005).

Schroth ve ark., CYP 2D6, CYP 2C19, CYP 2B6, CYP 2C9, CYP 3A5 genetik varyasyonlarını tamoksifenle tedavi edilen 486 meme kanserli hastada çalışmış ve *4, *5, *10, *41 CYP 2D6 alleli taşıyanlar wild tipe kıyaslandığında hastalığın nüks ettiği ve kısa sürede hastanın durumunun kötüleştiği rapor edilmiştir (Schroth W, 2007). Hastaları 6,3 yıl takip edildiklerinde IM ve PM genotiplerinin, EM'ye göre hastalık durumu kötüye gidenlerde yüksek olduğu; kötüye gitme süresinde PM'lerde EM'ye göre daha kısa sürede gerçekleştiği tespit edilmiştir (Schroth W, 2009). Ladona ve ark, CYP 2D6 heterozigot genotipi taşıyan postmenapozal kadın hastalar arasında meme kanser riskinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Ladona MG, 1996). Wegman ve ark. önceki çalışmaların aksine CYP 2D6*4 varyant alleli taşıyanlarda wild tipe göre daha iyi bir prognoz tespit etmişlerdir (Wegman P, 2005; Wegman P, 2009). Nowell ve ark. yapmış oldukları çalışmada istatistiksel olarak bir önem arzetmese de CYP 2D6*4 taşıyıcılarında hastalıktan bağımsız yaşama süresinde artış olduğunu rapor etmişlerdir (Nowell SA, 2005). Achraf ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada, CYP 2D6 polimorfizm analizinde homozigot wild ge-

notip taşıyan postmenapozal hastalarda meme kanser riskinin artmadığını tespit etmişlerdir (Achraf Khedhaier1, 2008). Bu sonuca tam zıt çalışmalardan bir tanesi olan, De Jong ve ark. CYP 2D6 mutant genotipin meme kanser riskini arttırdığını tespit etmişlerdir. De Jong ve ark., CYP 2D6 heterozigot genotipin meme kanserine karşı koruyucu bir etkisinin olduğunu da saptamışlardır (De Jong MM, 2002).

Meme kanserinin; CYP2 D6 geni ile bu hastalığın patogenezinde yer alan farklı bir gen arasındaki linkaja bağlı gelişebileceği düşünülmektedir. Örnek olarak; C-sis (platelet derived growth factor B) protoonkogenide CYP 2D6 geni gibi 22 kromozom üzerinde yer almaktadır. (Smith CA, 1992). CYP 2D6 genetik polimorfizmi ve tamoksifen kullanan meme kanser hastaları arasındaki ilişkiyi inceleyen çoğu çalışmada farklı bulguların elde edilmesinden dolayı daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç: Bu bilgilerin ışığında, gen polimorfizminin meme kanseri için bir belirteç olarak kullanılabilirliği söylenebilir. Genotipleme/fenotipleme çalışmalarının avantajı kullanılarak terapötik ilaç uygulamalarının monitörize edilebilmesi sağlanabilir. Aynı zamanda, genotipleme yöntemleriyle; PM ve UM fenotipleri belirlenerek, bu bilgilere göre ilaç dozajlarının ayarlaması kolaylıkla yapılabilir. CYP 2D6 metabolik durumunun terapiden önce değerlendirilmesi terapiye yanıt veremeyecek kişilerin veya toksik ilaç etkilerinin önlenmesi ve kişiye özel optimal dozun belirlenebilmesi açısından da oldukça önemlidir. Böylece tamoksifen ilacı verilmeden önce meme kanser hastasının genotipleme çalışmasının yapılması tedavi yanıtı açısından oldukça kritik bir rol oynamaktadır. Ayrıca tamoksifenle CYP 2D6 inhibitörlerinin eş zamanlı olarak reçetelenmemesine dikkat edilmesi gerekmektedir. Bu tip moleküler yöntemlerle, hasta açısından hem zaman hem de ekonomik kayıpların önüne geçilebileceğine inanmaktayız.

Kaynaklar

1. Horner-Glister E1, Maleki-Dizaji M, Guerin CJ, Johnson SM, Styles J, White IN Influence of oestradiol and tamoxifen on oestrogen receptors-alpha and -beta protein degradation and non-genomic signalling pathways in uterine and breast carcinoma cells. *J Mol Endocrinol.* 2005 Dec;35(3):421-32
2. Mendelsohn ME, Karas RH. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science* 2005; 308:1583-1587.
3. Cauley JA, Seeley DG, Ensrud K, et al. Estrogen Replacement Therapy and Fractures in Older Women. *Annals of Internal Medicine* 1995; 122:9-16.
4. Mora S, Kershner DW, Vigilance CP, et al. Coronary Artery Disease in Postmenopausal Women. Current treatment options in cardiovascular medicine 2001; 3: 67-79.
5. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocrine Reviews* 2002; 23:279-302.
6. Sherwin BB. Estrogen and cognitive aging in women. *Trends in Pharmacological Sciences* 2002; 23: 527-53.
7. Feigelson HS, Henderson BE. Estrogens and breast cancer. *Carcinogenesis* 1996; 17: 2279-2284

8. Korach KS, Hewitt SC, Couse JF. Estrogen receptor transcription and transactivation Estrogen receptor knockout mice: what their phenotypes reveal about mechanisms of estrogen action. *Breast Cancer Research* 2000; 2: 345-352
9. Green S, Walter P, Greene G, et al. Cloning of the human oestrogen receptor cDNA. *Journal of Steroid Biochemistry* 1986; 24: 77-83
10. Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, et al. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996; 93: 5925-5930
11. Ricketts D, Turnbull L, Ryall G, et al. Estrogen and progesterone receptors in the normal female breast. *Cancer Research* 1991; 51: 1817-1822
12. Leygue E, Dotzlaw H, Watson PH, et al. Altered estrogen receptor alpha and beta messenger RNA expression during human breast tumorigenesis. *Cancer Research* 1998; 58: 3197-3201.
13. Ali S, Coombes RC. Estrogen receptor alpha in human breast cancer: occurrence and significance. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 2000; 5: 271-281
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK, et al. Estrogen receptor expression in benign breast epithelium and breast cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute* 1998; 90: 37-42
15. Dahlman-Wright K, Cavailles V, Fuqua SA, et al. International Union of Pharmacology. LXIV. Estrogen receptors. *Pharmacological Reviews* 2006; 58: 773-781
16. Shiau AK, Barstad D, Loria PM, et al. The structural basis of estrogen receptor/coactivator recognition and the antagonism of this interaction by tamoxifen. *Cell* 1998; 95: 927-937,
17. Brzozowski AM, Pike AC, Dauter Z, Hubbard RE, Bonn T, Engstrom O, Ohman L, Greene GL, Gustafsson JA, and Carlquist M. Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature*. 1997; 389: 753-758.
18. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, et al. Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocrine Reviews* 2009; 30: 293-342
19. O'Reilly EJ, Mirzaei F, Forman MR, et al. Diethylstilbestrol Exposure in Utero and Depression in Women. *American Journal of Epidemiology* 2010; 171:876-882.
20. Giusti RM, Iwamoto K, Hatch EE. Diethylstilbestrol Revisited - a Review of the Long-Term Health-Effects. *Annals of Internal Medicine* 1995; 122:778-788.
21. Warri A, Saarinen N, Makela S, et al. The role of early life genistein exposures in modifying breast cancer risk. *British Journal of Cancer* 2008; 98: 1485-1493.
22. Messina MJ, Persky V, Setchell KDR, et al. Soy Intake and Cancer Risk - a Review of the in-Vitro and in-Vivo Data. *Nutrition and Cancer-an International Journal* 1994; 21: 113-131.
23. Matsumura A, Ghosh A, Pope GS, et al. Comparative study of oestrogenic properties of eight phytoestrogens in MCF7 human breast cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2005; 94: 431-443.
24. Ju YH, Allred KF, Allred CD, et al. Genistein stimulates growth of human breast cancer cells in a novel, postmenopausal animal model, with low plasma estradiol concentrations. *Carcinogenesis* 2006; 27: 1292-1299.
25. Booth EA, Marchesi M, Knittel AK, et al. The pathway-selective estrogen receptor ligand WAY169916 reduces infarct size after myocardial ischemia and reperfusion by an estrogen receptor dependent mechanism. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2007; 49: 401-407
26. Keith JC, Albert LM, Leathurby Y, et al. The utility of pathway selective estrogen receptor ligands that inhibit nuclear factor-kappa B transcriptional activity in models of rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy* 2005; 7:R427-R438.
27. Chadwick CC, Chippari S, Matelan E, et al. Identification of pathway-selective estrogen receptor ligands that inhibit NF-kappaB transcriptional activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005; 102:2543-2548.
28. Bruning JB, Parent AA, Gil G, et al. Coupling of receptor conformation and ligand orientation determine graded activity. *Nature Chemical Biology* 2010; 6: 837-843
29. Manas ES, Xu ZB, Unwalla RJ, et al. Understanding the selectivity of genistein for human estrogen receptor-beta using X-ray crystallography and computational methods. *Structure* 2004; 12: 2197-2207.
30. Riggs BL, Hartmann LC. Drug therapy: Selective estrogen-receptor modulators - Mechanisms of action and application to clinical practice. *New England Journal of Medicine* 2003; 348:618629.
31. Blizzard TA, DiNinno F, Morgan JD, et al. Estrogen receptor ligands. Part 9: Dihydrobenzoxathiin SERAMs with alkyl substituted pyrrolidine side chains and linkers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2005; 15: 107-113.
32. Johnston SJI, Cheung KL Fulvestrant - a novel endocrine therapy for breast cancer. *Curr Med Chem*. 2010;17(10):902-14.
33. Dodwell DI, Vergote IA comparison of fulvestrant and the third-generation aromatase inhibitors in the second-line treatment of postmenopausal women with advanced breast cancer. *Cancer Treat Rev*. 2005 Jun;31(4):274-82.
34. C. Kalyana Kumar, Mohan Reddy, Kaiser Jamil* and Mohana Vamsy Genotyping of tamoxifen metabolizing enzyme(CYP 2D6*4) and its clinical impact in breast cancerpatients.
35. Osborne CK (1998) Tamoxifen in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 339(22):1609-1618.
36. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (2005) Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 365(9472):1687-1717.
37. Precigoux G, Courdeille, C., Geoffre, S., and Hospital, M., 1979 *Acta Cryst.* B35 3070-3072
38. Clarke M, Collins R, Davies C, et al. Tamoxifen for early breast cancer: An overview of the randomised trials. *Lancet* 1998; 351:1451-1467.
39. Jin Y, Desta Z, Stearns V, et al. CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism during adjuvant breast cancer treatment. *Journal of the National Cancer Institute* 2005; 97: 3039
40. Desta Z, Ward BA, Soukhova NV, et al. Comprehensive evaluation of tamoxifen sequential biotransformation by the human cytochrome P450 system in vitro: Prominent roles for CYP3A and CYP2D6. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2004; 310:1062-1075
41. Potter GA, Mccague R, Jarman M. A Mechanistic Hypothesis for DNA Adduct Formation by Tamoxifen Following Hepatic Oxidative-Metabolism. *Carcinogenesis* 1994; 15: 439-442
42. Boocock DJ, Brown K, Gibbs AH, et al. Identification of human CYP forms involved in the activation of tamoxifen and irreversible binding to DNA. *Carcinogenesis* 2002; 23: 1897-1901,
43. Jordan, V.C.; Collins, M.M.; Rowsby, L; Prestwich, G. A monohydroxylated metabolite of tamoxifen with potent antioestrogenic activity. *J. Endocrinol.* 1977, 75, 305-316.
44. Johnson, M.D.; Zuo, H.; Lee, K.H.; Trebley, J.P.; Rae, J.M.; Weatherman, R.V.; Desta, Z.; Flockhart, D.A.; Skaar, T.C. Pharmacological characterization of 4-hydroxy-N-desmethyl tamoxifen, a novel active metabolite of tamoxifen. *Breast Cancer Res. Treat.* 2004, 85, 151-159.
45. Lim, Y.C.; Desta, Z.; Flockhart, D.A.; Skaar, T.C. Endoxifen (4-hydroxy-N-desmethyltamoxifen) has anti-estrogenic effects in breast cancer cells with potency similar to 4-hydroxytamoxifen. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2005, 55, 471-478.
46. Lim, Y.C.; Li, L.; Desta, Z.; Zhao, Q.; Rae, J.M.; Flockhart, D.A.; Skaar, T.C. 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, 503-512.
47. Stearns, V.; Johnson, M.D.; Rae, J.M.; Morocho, A.; Novielli, A.; Bhargava, P.; Hayes, D.F.; Desta, Z; Flockhart, D.A. Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *J. Natl. Cancer Inst.* 2003, 95, 1758-1764

48. Wu, X.; Hawse, J.R.; Subramaniam, M.; Goetz, M.P.; Ingle, J.N.; Spelsberg, T.C. The tamoxifen metabolite, endoxifen, is a potent antiestrogen that targets estrogen receptor alpha for degradation in breast cancer cells. *Cancer Res.* 2009, 69, 1722-1727.
49. Zanger, U.M.; Turpeinen, M.; Klein, K.; Schwab, M. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Anal. Bioanal. Chem.* 2008, 392, 1093-1108
50. Jann MW, Cohen LJ, 2001. The influence of ethnicity and antidepressant pharmacogenetics in the treatment of depression. *Drug Metabolism and Drug Interaction*, 16: 39-67
51. Mayer UA, 2004. Pharmacogenetics - five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nature Reviews Genetics*, 5: 669-676.
52. Brauch, H.; Mürdter, T.E.; Eichelbaum, M.; Schwab, M. Pharmacogenomics of tamoxifen therapy. *Clin. Chem.* 2009, 55, 1770-1782
53. Bradford, L.D. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics* 2002, 3, 229-243,
54. Ingelman-Sundberg, M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2d6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J.* 2005, 5, 6-13.
55. Rodriguez-Antona, C.; Ingelman-Sundberg, M. Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer. *Oncogene* 2006, 25, 1679-1691
56. Lennard MS, 1990. Genetic polymorphism of sparteine/debrisoquine oxidation: A reappraisal. *Pharmacology and Toxicology*, 67: 273-83.
57. Mayer UA, Skoda RC, Zanger UM, 1990. The genetic polymorphism of debrisoquine/sparteine metabolism - molecular mechanisms. *Pharmacology and Therapeutics*, 46: 297-308.
58. Kroemer HK, Eichelbaum M, 1995. It's the genes, stupid? Molecular basis and clinical consequences of genetic cytochrome P4502D6 polymorphism. *Life Sciences*, 56: 2285-98.
59. Achraf Khedhaier1, Elham Hassen*1, Noureddine Bouaouinal,2,Salouha Gabboujl, Slim Ben Ahmed3 and Lotfi Chouchane1, Implication of Xenobiotic Metabolizing Enzyme gene (CYP2E1, CYP2C19, CYP 2D6, mEH and NAT2) Polymorphisms in BreastCarcinoma 4*BMC Cancer* 2008, 8: 109.
60. Kelsey KT, Wrensch M, Zuo ZF, Miike R, Wiencke JK, 1997. A population based study of the CYP 2D6 and GSTT1 polymorphisms and malignant brain tumors. *Pharmacogenetics*, 7: 463-8.
61. Christensen, Gotzsche PC, Brosen K, 1997. The sparteine/debrisoquine (CYP 2D6) oxidation polymorphism and the risk of lung cancer: a meta-analysis. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 51: 389-93.
62. Wolf CR, Smith CAD, Forman D, 1994. Metabolic polymorphisms in carcinogen metabolizing enzymes and cancer susceptibility. *British Medical Bulletin*, 50: 718-31.
63. Lynch, T.; Price, A. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *Am. Fam. Physician* 2007, 76, 391-396
64. Lim, H.S.; Ju, Lee H.; Seok Lee, K.; Sook Lee, E.; Jang, I.J.; Ro, J. Clinical implications of CYP2D6 genotypes predictive of tamoxifen pharmacokinetics in metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2007, 25, 3837-3845
65. Borges, S.; Desta, Z.; Li, L.; Skaar, T.C.; Ward, B.A.; Nguyen, A.; Jin, Y.; Storniolo A.M.; Nikoloff D.M.; Wu L.; et al. Quantitative effect of CYP2D6 genotype and inhibitors on tamoxifen metabolism: implication for optimization of breast cancer treatment. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2006, 80, 61-74.
66. Stearns, V.; Johnson, M.D.; Rae, J.M.; Morocho, A.; Novielli, A.; Bhargava, P.; Hayes, D.F.; Desta, Z.; Flockhart, D.A. Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *J. Natl. Cancer. Inst.* 2003, 95, 1758-1764
67. Goetz, M.P.; Rae, J.M.; Suman, V.J.; Safgren, S.L.; Ames, M.M.; Visscher, D.W.; Reynolds, C.; Couch, F.J.; Lingle, W.L.; Flockhart, D.A.; et al. Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *J. Clin. Oncol.* 2005, 23, 9312-9318
68. Goetz, M.P.; Knox, S.K.; Suman, V.J.; Rae, J.M.; Safgren, S.L.; Ames, M.M.; Visscher, D.W.; Reynolds, C.; Couch, F.J.; Lingle, W.L.; et al. The impact of cytochrome P450 2D6 metabolism in women receiving adjuvant tamoxifen. *Breast Cancer Res. Treat.* 2007, 101, 113-121.
69. Goetz, M.P.; Suman, V.; Ames, M.; Black, J.; Safgren, S.; Kuffel, M.; Avula, R.; Moyer, A.; Weinshilboum, R.; Reynolds, C.; Perez, E.; Ingle, J. Tamoxifen pharmacogenetics of CYP2D6, CYP2C19, and SULT1A1: long term follow-up of the North Central Cancer Treatment Group 8930-52 adjuvant trial. In *Proceedings of the San Antonio Breast Cancer Symposium, San Antonio, Texas, USA, 10-14 December 2008*; Abstract 6037
70. Schroth, W.; Antoniadou, L.; Fritz, P.; Schwab, M.; Muerdter, T.; Zanger, U.M.; Simon, W.; Eichelbaum, M.; Brauch, H. Breast cancer treatment outcome with adjuvant tamoxifen relative to patient CYP2D6 and CYP2C19 genotypes. *J. Clin. Oncol.* 2007, 25, 5187-5193.
71. Newman, W.G.; Hadfield, K.D.; Latif, A. Roberts, S.A.; Shenton, A.; McHague, C.; Laloo, F.; Howell, S.; Evans, D.G.; Impaired tamoxifen metabolism reduces survival in familial breast cancer patients. *Clin. Cancer Res.* 2008, 14, 5913-5918.
72. Bijl, M.J.; van Schaik, R.H.; Lammers, L.A.; Hofman, A.; Vulto, A.G.; van Gelder, T.; Stricker, B.H.; Visser, L.E. The CYP2D6*4 polymorphism affects breast cancer survival in tamoxifen users. *Breast Cancer Res. Treat.* 2009, 118, 125-130.
73. Gonzalez-Santiago, S.; Zárate, R.; Haba-Rodríguez, J.; Gómez, A.; Bandrés, E.; Moreno, S.; Borrega, P.; García-Foncillas, J.; Aranda, E. CYP2D6*4 polymorphism as blood predictive biomarker of breast cancer relapse in patients receiving adjuvant tamoxifen. *J. Clin. Oncol.* 2007 25(18S): abstract 590. *ASCO Annual Meeting Proceedings Part I.*
74. Ramón, y Cajal, T.; Altés, A.; Paré, L.; del Rio, E.; Alonso, C.; Barnadas, A.; Baiget, M. Impact of CYP2D6 polymorphisms in tamoxifen adjuvant breast cancer treatment. *Breast Cancer Res. Treat.* 2010, 119, 33-38.
75. Nowell, S.A.; Ahn, J.; Rae, J.M.; Scheys, J.O.; Trovato, A.; Sweeney, C.; MacLeod, S.L.; Kadlubar, F.F.; Ambrosone, C.B. Association of genetic variation in tamoxifen-metabolizing enzymes with overall survival and recurrence of disease in breast cancer patients. *Breast Cancer Res. Treat.* 2005, 91, 249-258.
76. Wegman, P.; Väinikka, L.; Stål, O.; Nordenskjöld, B.; Skoog, L.; Rutqvist, L.E.; Wingren, S. Genotype of metabolic enzymes and the benefit of tamoxifen in postmenopausal breast cancer patients. *Breast Cancer Res.* 2005, 7, R284-290 .
77. Schroth W, Goetz MP, Hamann U, Fasching PA, Schmidt M, Winter S, et al. Association between CYP 2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen. *JAMA* 2009;302:1429-1436.
78. Ladona MG, Abildua RE, Ladero JM, Roman JM, Plaza MA, AquñdezJA, Muñoz JJ, Benítez J: CYP 2D6 genotypes in spanish women with breast cancer. *Cancer lett* 1996, 99:23-8.
79. Wegman P, Elingarami S, Carstensen J, Stal O, Nordenskjold B, Wingren S (2007) Genetic variants of CYP3A5, CYP 2D6, Breast Cancer Res Treat (2009) 118:125-130 129123SULT1A1, UGT2B15 and tamoxifen response in postmenopausal patients with breast cancer. *Breast Cancer Res* 9(1):R7.
80. De Jong MM, Nolte IM, Te Meerman GJ, Van der Graaf WT, OosterwijkJC, Kleibeuker JH, Schaapveld M, de Vries EG: Genes othert-han BRCA1 and BRCA2 involved in breast cancer susceptibility. *J Med Genet* 2002, 39:225-42
81. Smith CA, Moss E, Gough C, Spurr K, Wolf C, 1992. Molecular genetic analysis of the cytochrome P450-Debrisoquine hydroxylase locus and association with cancer susceptibility. *Environmental Health Perspectives*, 98: 107-112.