

## Czynniki warunkujące skuteczność leczenia tamoksyfenem u chorych na raka piersi

Magdalena Wiczorek-Rutkowska, Jacek Jassem

*Tamoksyfen jest stosowany w leczeniu raka piersi od ponad 30 lat. Przez wiele lat jedynym wskaźnikiem skuteczności leczenia tym preparatem była obecność receptorów steroidowych (estrogenowego i progesteronowego) w komórkach nowotworu. Niedawno zwrócono uwagę, że skuteczność ta może być uwarunkowana genetycznie. Niezależnie od tego wykazano, że metabolizm tamoksyfenu jest silnie związany z równoczesnym przyjmowaniem leków przeciwdepresyjnych z grupy zwrotnego wychwytu serotoniny. W pracy przedstawiono obecną wiedzę na temat znaczenia konstytutywnego polimorfizmu genów enzymu cytochromu P450 (CYP2D6) oraz wpływu równoczesnego przyjmowania leków przeciwdepresyjnych z grupy SSRI na metabolizm tamoksyfenu. Przedstawiono także rolę ekspresji białek PAX2, AIB1 i receptora ERBB2 oraz genów związanych z opornością na antyestrogeny (BCAR) w odpowiedzi na leczenie tamoksyfenem.*

### Factors determining the efficacy of tamoxifen treatment in breast cancer patients

*Tamoxifen has been used for the treatment of breast cancer for over 30 years. For a long time the only indicator of efficacy of tamoxifen treatment was the presence of steroid receptors (estrogen and progesteron) in cancer cells. Recently, genetic determinants of tamoxifen efficacy have been postulated. Additionally, tamoxifen metabolism is largely dependent on the use of SSRI antidepressants. This article reviews the current knowledge on CYP2D6 gene polymorphism, and the impact of the simultaneous intake of SSRI antidepressants on tamoxifen metabolism in breast cancer patients. Additionally, we discuss the impact of PAX2, AIB2 and ERBB2 proteins, and breast cancer antiestrogen resistance (BCAR) gene on the efficacy of tamoxifen.*

**Słowa kluczowe:** tamoksyfen, polimorfizm genowy, rak piersi

**Key words:** tamoxifen, gene polymorphism, breast cancer

### Wprowadzenie

Rak piersi jest obecnie najczęstszym na świecie nowotworem złośliwym u kobiet. U chorych wykazujących ekspresję receptorów estrogenowych lub progesteronowych podstawową metodą systemowego leczenia jest hormonoterapia [1]. Jednym z najczęściej stosowanych leków hormonalnych u chorych na raka piersi jest selektywny modulator receptorów estrogenowych – tamoksyfen. W 1977 r. został on wprowadzony do leczenia zaawansowanego nowotworu piersi, a kilka lat później – także do leczenia uzupełniającego [1]. Działanie tamoksyfenu polega głównie na blokowaniu łączenia estrogenów z receptorami jądrowymi, co prowadzi do zmniejszenia stężenia mitogenów w cytoplazmie (czynniki wzrostu nowotworu i czynniki wzrostu naczyń). W efekcie dochodzi do zahamowania fazy G1 cyklu komórkowego i śmierci komórki, czego wynikiem jest obniżenie tempa proliferacji

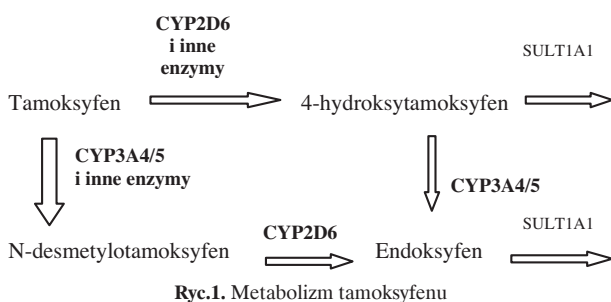
komórek nowotworowych [2-4]. Ponadto tamoksyfen wykazuje działanie częściowo agonistyczne w stosunku do receptorów estrogenowych. Klinicznie przejawia się to efektem ochronnym w odniesieniu do kości (zmniejszenie ich demineralizacji), co jest szczególnie istotne po menopauzie [5]. Tamoksyfen obniża również stężenie lipidów w surowicy i wywiera korzystny wpływ na układ sercowo-naczyniowy [6].

Niekorzystnym działaniem tamoksyfenu jest pobudzenie wzrostu komórek błony śluzowej macicy, czego wynikiem jest jej przerost oraz zwiększenie ryzyka raka trzonu macicy. Skuteczność leku u chorych na raka piersi z ekspresją receptorów estrogenowych i/lub progesteronowych została potwierdzona w wielu badaniach. Lek znalazł szerokie zastosowanie w leczeniu wczesnego i zaawansowanego raka piersi, zarówno u kobiet przed, jak i po menopauzie [1, 7-8]. Podjęto także badania oceniające skuteczność tamoksyfenu w profilaktyce raka piersi [9]. W ostatnich latach u chorych na raka piersi po menopauzie przeprowadzono duże badania kliniczne III fazy, w których porównano skuteczność leczenia

tamoksyfenem i inhibitorami aromatazy. Wyniki tych badań wskazują na nieznacznie wyższą skuteczność inhibitorów aromatazy w zakresie czasu do nawrotu, bez istotnej różnicy w odniesieniu do czasu całkowitego przeżycia [10-16]. Inhibitory aromatazy mają inny niż tamoksyfen profil działań niepożądanych.

### Metabolizm tamoksyfenu

Tamoksyfen jest nieaktywnym prolekiem podawanym w formie doustnej, dobrze wchłaniającym się w przewodzie pokarmowym. Warunkiem działania i skuteczności tamoksyfenu jest przekształcenie go do form aktywnych, które posiadają aktywność antyestrogenową od 30 do 100 razy większą niż wyjściowa postać leku [17]. Tamoksyfen jest metabolizowany w wątrobie przez system enzymów cytochromu P450 do endoksyfenu lub 4-hydroksytamoksyfenu [17-19]. Znanych jest wiele izoform enzymów cytochromu P450, biorących udział w metabolizmie tamoksyfenu. Najważniejsze z nich to CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, CYP2C9, CYP2C19, CYP2B6 i CYP1A2. W badaniach *in vitro* wykazano, że w pierwszym etapie tamoksyfen jest przekształcany przez enzym CYP3A4/5 do N-desmetylotamoksyfenu, który pod wpływem CYP2D6 ulega katalizie do 4-hydroksy-N-desmetylotamoksyfenu, tj. endoksyfenu. Druga, „węzła” ścieżka metabolizmu tamoksyfenu obejmuje jego przekształcenie do 4-hydroksytamoksyfenu pod wpływem CYP2D6 lub innych enzymów (CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A). 4-hydroksytamoksyfen jest następnie metabolizowany do endoksyfenu pod wpływem CYP3A4/5 (ryc. 1). W dalszym procesie metabolicznym endoksyfen oraz 4-hydroksytamoksyfen są neutralizowane przez enzym SULT1A1 [17-19]. U kobiet leczonych tamoksyfenem stężenie endoksyfenu w surowicy jest znacznie wyższe w porównaniu z 4-hydroksytamoksyfenem [20]. W efekcie skuteczność leczenia tamoksyfenem jest ściśle zależna od stężenia endoksyfenu w cytoplazmie. Ostatnio wykazano, że to endoksyfen indukuje zmiany białkowe receptora estrogenowego poprzez rozpad proteasomów, podczas gdy tamoksyfen, 4-hydroksytamoksyfen oraz N-desmetylotamoksyfen stabilizują receptor estrogenowy. Optymalna degradacja proteasomu zachodzi przy stężeniu endoksyfenu powyżej 40 nM, występującego u ludzi z prawidłowym metabolizmem leku. Z kolei u osób z osłabionym metabolizmem stężenie endoksyfenu wynosi około 20 nM. Wysokie stężenie endoksyfenu (100-1000 nM) całkowicie blokuje indukcję receptora



estrogenowego i w konsekwencji proliferację komórek nowotworowych [21].

### Polimorfizm genu *CYP2D6*

Aktywność białka CYP2D6 wykazuje znaczną zmienność osobniczą, związaną z polimorfizmem kodującego go genu *CYP2D6*. Obecność niektórych form polimorficznych tego genu u chorych na raka piersi obniża metabolizm tamoksyfenu, co powoduje niższe stężenie w osoczu jego aktywnego metabolitu – endoksyfenu.

Polimorfizm genetyczny obejmuje występowanie w danej populacji dwóch lub więcej form danego genu. Aby określić zmianę w DNA mianem polimorfizmu (a nie mutacji), musi ona występować w populacji z częstością większą niż 1%. Polimorfizm jest zjawiskiem powszechnie występującym w świecie roślin, zwierząt i ludzi. Zmienność koloru oczu czy włosów w populacji ludzi lub zwierząt to jedne z jego licznych przykładów. Najczęstsze rodzaje polimorfizmu w zależności od zmian w sekwencji DNA to polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP – *single nucleotide polymorphism*) oraz polimorfizm wielokrotnych powtórzeń (polimorfizm krótkich powtórzeń tandemowych STRP – *short tandem repeat polymorphism* i zmienna liczba powtórzeń tandemowych VNTR – *variable number tandem repeats*). SNP to obecność różnych form danego genomu, w których zmiana w genomie dotyczy pojedynczych nukleotydów. Podobnie jak w przypadku mutacji zmiana ta może polegać na insercji, delecji lub substytucji pojedynczych nukleotydów, czego konsekwencją może być zmiana aminokwasowej budowy białka lub nasilenia jego ekspresji [22]. Polimorfizm genetyczny ocenia się najczęściej przy użyciu metody łańcuchowej reakcji polimerazy PCR (*polymerase chain reaction*) i RFLP (*restriction fragment length polymorphism*). RFLP jest metodą, w której wykorzystuje się enzymy restrykcyjne, izolowane z różnych gatunków bakterii. Enzymy te rozpoznają swoistą sekwencję, zwykle 4-6 par zasad, i rozcinają symetrycznie obydwie nici DNA na zdefiniowane i powtarzalne fragmenty. Ocena występowania polimorfizmów i mutacji pozwala na określenie ich związku z chorobą, a w medycynie sądowej – na wykrycie ściśle określonego fragmentu DNA [23-24]. Zjawisko polimorfizmu może wpływać na właściwości danego produktu. Gdy produktem tym jest enzym, jego stężenie w osoczu, a przez to aktywność, może zostać osłabiona lub wzmocniona w zależności od występowania polimorficznych form genu kodującego ten enzym. Zjawisko to może występować z różnym nasileniem w poszczególnych populacjach. W populacji ludzi rasy białej 95% form polimorficznych genu *CYP2D6*, związanych z nieprawidłową funkcją enzymatyczną, stanowią allele *CYP2D6\*3*, *CYP2D6\*4*, *CYP2D6\*5* i *CYP2D6\*6*. Chore z dysfunkcyjnym genem i upośledzonym metabolizmem stanowią 5-10% populacji ludzi rasy białej [25-26] i mniej niż 1% populacji rasy żółtej [27-28]. W populacji rasy żółtej najczęściej występują polimorfizmy z allelem \*10 (częstość 40-50%) [28]. Obecnie znane są funkcje kilkudziesięciu polimorficznych form genu kodującego

enzym CYP2D6. *CYP2D6\*1* w najczęściej występującej formie (*wild-type allele*) koduje enzym o prawidłowym działaniu. Allele związane z brakiem aktywności enzymu to *CYP2D6 \*3-8, \*11-16, \*18-20, \*38, \*40, \*42, \*44*, a ze zmniejszoną aktywnością enzymu – *CYP2D6-CYP2D6\*9, \*10, \*17, \*29, \*36, \*37, \*41*. Z kolei zwiększona katalityczna funkcja enzymu CYP2D6 towarzyszy zwykle obecności wielokrotnych kopii alleli *CYP2D6\*1, \*2, \*35 i \*41* [29-30].

W ostatnich kilku latach opublikowano wiele doniesień na temat wpływu genotypu na metabolizm tamoksyfenu i związaną z tym gorszą odpowiedź kliniczną na ten lek (Tab. I).

Zwrócono również uwagę, że oprócz aktywności enzymatycznej CYP2D6 istotną rolę w metabolizmie tamoksyfenu w badaniach *in vitro* odgrywa enzym CYP3A, związany z usuwaniem tamoksyfenu z komórki. Stosowane równocześnie z tamoksyfenem inhibitory CYP3A, np. blokery kanałów wapniowych, mogą powodować wzrost jego stężenia w cytoplazmie [31]. Goetz i wsp. [32] w grupie kobiet po menopauzie chorych na raka piersi, które otrzymywały tamoksyfen w badaniu NCCTG, wyodrębnili z fragmentów guza genotypy *CYP2D6\*4* i *CYP2D6\*6* oraz *CYP3A5\*3*. Autorzy porównali również genotypy z komórek błony śluzowej policzka i z fragmentów guza zatopionych w parafinowych bloczkach, uzyskując 100% zgodność. U chorych z genotypem *CYP2D6\*4\*4* leczonych tamoksyfenem krótszy był czas wolny od zdarzenia ( $p=0,023$ ), czas wolny od choroby ( $p=0,012$ ) i większe ryzyko nawrotu nowotworu. Zauważono, że w tej grupie chorych rzadziej występowały objawy niepożądane leczenia tamoksyfenem, takie jak uderzenia gorąca. Jest to prawdopodobnie związane z omawianą poprzednio niską aktywnością enzymatyczną CYP2D6 u osób z wariantowym genotypem, co z kolei powoduje gorszą przemianę tamoksyfenu do czynnego endoksyfenu. Nie wykazano natomiast wpływu obecności wariantu *CYP3A5\*3* na odpowiedź kliniczną pod wpływem leczenia tamoksyfenem. Zgodność genotypowa materiału z guza i policzka sugeruje łatwość i dużą dostępność ewentualnego badania genotypów chorych w celu wybrania najbardziej aktywnego leku hormonalnego.

Interesujących wyników dostarcza analiza genotypu *CYP2D6\*4\*4* u kobiet, które zachorowały na raka piersi w trakcie profilaktycznego podawania tamoksyfenu w ramach dużego badania III fazy [33]. W badaniu tym 5408 kobiet w wieku 35-70 lat, po wcześniejszej histerektomii, przydzielono losowo do profilaktycznego podawania tamoksyfenu lub placebo. W grupie 46 kobiet, które podczas przyjmowania tamoksyfenu zachorowały na raka piersi, częstość genotypu *CYP2D6\*4\*4* wynosiła 7,8%, a w grupie 136 kobiet, u których nie doszło do zachorowania na ten nowotwór – 0,7%; ( $p=0,015$ ). Ponadto w grupie chorych z genotypem *CYP2D6\*4\*4*, które zachorowały na raka piersi, nie występowały w ogóle nasilone (stopień 2-3) objawy niepożądane tamoksyfenu w postaci uderzeń gorąca, podczas gdy objaw ten wystąpił u 20% chorych z genotypem zawierającym przynajmniej jeden allel *wt*.

Obserwacja ta może potwierdzać związek intensywności „uderzeń gorąca” z metaboliczną aktywnością CYP2D6, albowiem objaw był najbardziej nasilony wśród chorych z prawidłowym metabolizmem tamoksyfenu (najczęstszy genotyp). Autorzy wysunęli hipotezę, że analiza genotypu *CYP2D6* umożliwiłaby lepszy wybór leczenia hormonalnego u chorych na raka piersi oraz profilaktyki farmakologicznej z udziałem tamoksyfenu [33].

W trzech badaniach, w których stosowano tamoksyfen u kobiet białej rasy chorych na raka piersi, podważono przedstawione wyżej hipotezy [34-36]. W jednym z tych badań wnioski były wręcz odwrotne – wykazano dłuższy czas wolny od nawrotu w grupie z genotypem *CYP2D6\*4\*4* w porównaniu z grupą z genotypami *CYP2D6\*1\*4* i *CYP2D6\*1\*1*. Choć badanie obejmowało dużą grupę 677 chorych, to jednak losowemu przydziałowi poddano tylko 238 chorych, a analiza poszczególnych genotypów *CYP2D6* chorych leczonych tamoksyfenem przez 2 lub 5 lat dotyczyła odpowiednio 103 i 111 chorych. Badania te poddano jednak krytyce, podkreślając niejednorodność chorych w obu ramionach, różne dawki leku (20 i 40 mg) oraz okresy leczenia tamoksyfenem (2 i 5 lat). Nie uwzględniono również obecności innych form wariantowych *CYP2D6* oraz równoczesnego przyjmowania innych inhibitorów CYP2D6 [37]. Tak odmienne wyniki mogły również wynikać z dość „pochopnego” wyłączenia z badania chorych z powodu działań niepożądanych np. uderzeń gorąca. Obecnie wiadomo, że objaw ten jest prawdopodobnie wyrazem prawidłowego działania tamoksyfenu. W Tabeli II przedstawiono negatywne badania dotyczące omawianego zagadnienia.

W kolejnych badaniach przeprowadzonych w Korei, Japonii i w Chinach zwrócono uwagę, że u kobiet rasy żółtej częściej niż w innych populacjach występuje allel *CYP2D6\*10* (częstość 40-50%). Jego obecność u chorych na raka piersi może wiązać się z gorszym rokowaniem [38-40]. Nie potwierdzono tej hipotezy w pracy Okishiro i wsp [41].

Punglia i wsp. [42], stosując analizę statystyczną z zastosowaniem modelu Markowa, oszacowali ryzyko nawrotu w trakcie leczenia tamoksyfenem lub inhibitorami aromatazy u chorych na raka piersi w wieku pomenopauzalnym w zależności od poszczególnych genotypów *CYP2D6*. Podstawą analizy było roczne ryzyko nawrotu w trakcie leczenia tamoksyfenem lub inhibitorami aromatazy w niewyselekcjonowanej pod względem genotypu *CYP2D6*, grupie chorych po menopauzie, uczestniczących w badaniu BIG 1-98, porównującym letrozol z tamoksyfenem w uzupełnieniu operacyjnego leczenia [12]. Oceniając wskaźnik względnego ryzyka dla poszczególnych genotypów *CYP2D6*, wykorzystano procentowe dane z badania Goetz i wsp. [32], w którym częstość chorych z genotypem *CYP2D6wt/wt*, *wt\*4* i *\*4\*4* wynosiła odpowiednio: 71,2%, 21,1% i 6,8%. Ryzyko nawrotu dla genotypu *CYP2D6\*4\*4* było niemal dwukrotnie wyższe niż dla genotypu *CYP2D6wt/wt* (wskaźnik względnego ryzyka 1,86). Posługując się matematycznymi modelami wyliczono w ten sposób 5-letni czas wolny od choroby, który u chorych z genotypem *wt/wt*, leczonych tamoksy-

Tab. 1. Wpływ polimorfizmu CYP2D6 oraz leków z grupy SSRI na metabolizm tamoksyfenu

Autorki	Liczba chorych, rasa	Oceniane genotypy CYP2D6	Podstawowe stężenie endoksyfenu i/lub 4-hydroksytamoksyfenu	Efekt kliniczny	Wpływ innych leków metabolizowanych przez CYP2D6
Stearns i wsp. [20]	12 biała	*4*6*8 (5 chorych) wt/wt (allele*1) (7 chorych)	Średnie stężenie endoksyfenu i 4-hydroksytamoksyfenu przed zastosowaniem paroksetyny odpowiednio 12,4 ng/MI i 1,1 ng/MI, (p<0,001)	Nie oceniano	Spadek stężenia endoksyfenu po leczeniu paroksetyną o 64% w grupie z genotypem wt/wt (p=0,004) o 24% w grupie z genotypem wariantowym (p=0,03)
Jin i wsp. [31]	80 biała	(Vt/Vt) (*3,*4,*5,*6) (3); (Wt/Vt) (29), (Wt/Wt) (*1) (48)	U homozygot z genotypem CYP2D6*4*4 stężenie endoksyfenu o 26% niższe w porównaniu z homozygotami z genotypem CYP2D6*1*1	Nie oceniano	Spadek stężenia endoksyfenu w grupie leczonej jednocześnie innymi inhibitorami CYP2D6 o 38% w grupie z genotypem vt/wt o 58% w grupie z genotypem wt/wt
Goetz i wsp. [32]	256 biała	wt/wt (137) wt/*4 (40) *4/*4 (13)	Nie oceniano	Krótszy RF (p= 0,023) i DFS (P=0,012) w grupie z genotypem CYP2D6*4*4	Nie oceniano
Goetz i wsp. [63]	256 biała	*1*1 (115) *4/wt *4*4	Trzy grupy w zależności od stanu metabolicznego: zły metabolizm (przewaga genotypu *4/wt lub *4/*4); pośredni (przewaga genotypu *4/wt); ekstensywny - genotyp wt/wt	Znamiennie krótszy TTBR (p=0,0015), DFS (p=0,009), RFS (p=0,007) oraz nieznamienne krótszy OS (p=0,082) w grupie z pośrednim lub złym stanem metabolicznym	Chore zakwalifikowane do grupy źle metabolizującej (genotypy *4/wt, *4/*4) przyjmowały inne inhibitory
Borges i wsp. [30]	158 91% biała	33 allele	Trzy grupy w zależności od stosunku endoksyfenu/ N-desmetylotamoksyfenu	Nie oceniano	Wenlafaksyna – brak wpływu na stężenie aktywnego metabolitu, citalopram i sertralina niewielki wpływ, paroksetyna znaczne obniżenie (p<0,001)
Schorth i wsp. [55]	197 biała	Allele*4*5*10*41 *1*1	Nie oceniano	Znamiennie krótszy RFS (p=0,02) u chorych z allelami *4 *5 *10 *41 w porównaniu do grupy z genotypem CYP2D6*1*1	Nie oceniano
Lim i wsp. [39]	202 żółta	*10*10 Wt/Wt Wt/*10 i inne	Znamiennie niższe stężenie endoksyfenu (p<0,0001) i 4-hydroksytamoksyfenu (p<0,0001 w grupie z genotypem *10/*10)	Genotyp CYP2D6*10*10 znacznie częstszy w grupie z przerzutami (100% vs 50%; p=0,0186)	Nie oceniano
Kiyotani i wsp. [38]	67 żółta	*10*10 (15) *1*1 (20) i inne	Nie oceniano	Znamiennie wyższe ryzyko nawrotu (p=0,0057) oraz krótszy RF (p=0,036) w grupie z genotypem CYP2D6*10*10 w porównaniu do grupy z genotypem CYP2D6*1*1	Nie oceniano
Xu i wsp. [40]	293 żółta	*10*10 wt/wt	Znamiennie niższe stężenie 4-hydroksytamoksyfenu w grupie z genotypem CYP2D6*10*10 (p=0,04)	Znamiennie krótszy DFS w grupie z genotypem CYP2D6*10*10 (p=0,04)	Nie oceniano

Skróty: DFS – czas bez objawów choroby (*disease-free survival*), RF – czas wolny od zdarzenia (*relapse-free time*)

TTBR – czas do nawrotu raka piersi (*time to breast cancer recurrence*)

OS – czas całkowitego przeżycia (*overall survival*)



Tab. II. Wpływ polimorfizmu CYP2D6 oraz leków z grupy SSRI na metabolizm tamoksyfenu – badania negatywne

Autorzy	Liczba chorych, rasa	Oceniane genotypy CYP2D6	Podstawowe stężenie endoksyfenu i/lub 4-hydroksytamoksyfenu	Efekt kliniczny	Wpływ innych leków metabolizowanych przez CYP2D6
Wegman i wsp. [36]	76; biała	*1/*1(52) *1/*4 i *4/*4 (24)	Nie oceniano	Brak znamienności statystycznej w poszczególnych grupach chorych	Nie oceniano
Nowell i wsp. [34]	162 (ramię z tamoksyfenem) 175 (ramię bez hormonoterapii); biała (81%)	wt/wt (126) *4/*4+*4/wt (48) wt/wt (166) *4/*4+*4/wt (46)	Nie oceniano	Brak znamienności statystycznej w poszczególnych grupach chorych	Nie oceniano
Wegman i wsp. [35]	677 (randomizowano 238); biała	*1*1 (151) *1*4 i *4*4 (63)	Nie oceniano	Lepszy RFS w grupie z genotypem CYP2D6*4*4 ; HR<1; p=0,055	Nie oceniano
Okishiro i wsp. [41]	173 żółta	*10*10 (40) wt/wt lub wt/*10 (140) i inne	Nie oceniano	Nie stwierdzono znamiennej różnicy w zakresie RFS w poszczególnych grupach	Nie oceniano

Skróty: RFS – czas wolny od nawrotu choroby (*recurrence-free survival*)

fenem, wynosił 83,5%, w porównaniu do 84% w niewyselekcjonowanej grupie przyjmującej inhibitory aromatazy [42]. Wyniki te sugerują potencjalną przydatność oceny genotypu CYP2D6 w wyborze optymalnego leczenia hormonalnego chorych na raka piersi. Należy jednak pamiętać, że analiza ta jest jedynie symulacją matematyczną i zawarte w niej hipotezy muszą być zweryfikowane w prospektywnych badaniach.

### Wpływ innych leków metabolizowanych przez CYP2D6 na skuteczność leczenia tamoksyfenem

Niezależnie od genetycznych uwarunkowań metabolizmu tamoksyfenu, w ostatnim czasie zwrócono uwagę na wpływ przyjmowania innych leków metabolizowanych przez CYP2D6 na metabolizm tamoksyfenu. Obecnie znanych jest ponad 60 leków z różnych grup terapeutycznych, metabolizowanych przez ten enzym. Należą do nich między innymi: cymetydyna, amiodaron, doksepin, tiklopidyna, haloperidol, dekskrometorfan i tramadol [29, 43-47]. Spośród nich szczególnie często jednocześnie z tamoksyfenem stosowane są leki przeciwdepresyjne z grupy zwrotnego wychwyty serotoniny (SSRI). Wskazaniem do ich stosowania są m.in. „uderzenia gorąca”, jedno z częstszych działań niepożądanych leczenia tamoksyfenem, oraz depresja [32,48-52]. Ocenia się, że leki z grupy SSRI może przyjmować nawet ponad 25% chorych leczonych tamoksyfenem. Zmniejszenie nasilenia wymienionych dolegliwości uzyskuje się u 60% chorych leczonych SSRI i u 30% otrzymujących placebo [32, 49-52]. Wśród leków z grupy SSRI silnymi inhibitorami enzymu CYP2D6 są paroksetyna (Rexetin, Seroxat) [20] i fluoksetyna (Apo-Flox, Bioxetin, Deprexetin, Fluoxetin, Seronil) [30, 48, 49], natomiast słabymi – sertralina (Asentra, Stimuloton, Zoloft) i citalopram (Aurex, Cipramil, Cital, Citaratio) [30-31]. Silne inhibitory znacząco, natomiast słabe tylko nieznacznie, obniżają stężenie endoksyfenu

w osoczu. Największy spadek obserwowany jest w grupie z najsilniejszym metabolizmem (prawidłowy genotyp CYP2D6\*1\*1). Połączenie dysfunkcyjnej formy genu CYP2D6 z jednoczesnym przyjmowaniem inhibitorów enzymu CYP2D6 związane jest ze szczególnym obniżeniem stężenia endoksyfenu w osoczu, co może znacznie obniżyć skuteczność leczenia [20, 30, 31].

Interesujące badania dotyczące wymienionych wyżej zagadnień przedstawiono podczas tegorocznego kongresu Amerykańskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej (ASCO). W pracy Aubert i wsp. [53] wykorzystano amerykańską bazę danych recept, wystawianych chorym na raka piersi równocześnie na tamoksyfen oraz inne inhibitory CYP2D6. Porównano dwuletni wskaźnik ryzyka nawrotu w grupach przyjmujących wyłącznie tamoksyfen oraz tamoksyfen i jeden z silnych lub pośrednich inhibitorów CYP2D6. Grupy te liczyły odpowiednio 945 i 353 chore, a dwuletni wskaźnik ryzyka nawrotu raka piersi wynosił u nich odpowiednio 7,5% i 13,9%. Mediana czasu jednoczesnego przyjmowania tamoksyfenu i innych inhibitorów wynosiła 255 dni. Natomiast w pracy Dezentje i wsp. [54], gdzie wykorzystano dane z holenderskiej bazy danych PHARMO, nie wykazano niekorzystnego wpływu inhibitorów CYP2D6, stosowanych równocześnie z tamoksyfenem. W badaniu tym do grupy otrzymującej inhibitory CYP2D6 włączono jednak chore, które przyjmowały te leki przez co najmniej 60 dni. Być może zatem u części chorych okres ten był zbyt krótki, aby znacząco wpłynąć na skuteczność kilkuletniej kuracji tamoksyfenem [53-54]. W Tabeli I przedstawiono doniesienia, w których oceniono wpływ wybranych leków na metabolizm tamoksyfenu.

### Rola białek AIB1 oraz PAX2 w leczeniu tamoksyfenem

W ostatnich latach zwrócono szczególną uwagę na mechanizmy regulacyjne, związane ze szlakami komunika-

cyjnymi pomiędzy receptorem estrogenowym i receptorem ERBB2 (HER-2). Wykazano, że ekspresja zarówno białka AIB1 (koaktywatora receptora estrogenowego), jak i ERBB2 wiąże się z gorszą odpowiedzią na leczenie tamoksyfenem [56-57]. Wydaje się, że istotną rolę w odwróceniu tego mechanizmu odgrywa białko PAX2, które rywalizuje z AIB1 o miejsce wiązania z receptorem ERBB2 [58].

Tamoksyfen należy do selektywnych modulatorów receptora estrogenowego (SERM). Łącząc się z receptorem estrogenowym, hamuje on transkrypcję genu w jądrze komórkowym i w efekcie – proliferację komórek guza. Funkcja receptora estrogenowego może być również modulowana poprzez interakcje z białkami, będącymi jego koaktywatorami lub korepresorami [59]. Białka te mogą również modyfikować aktywność receptora estrogenowego i jego wiązanie z tamoksyfenem. AIB1/SRC-3 (białko będące koaktywatorem receptora estrogenowego) wykazuje wysoką ekspresję w komórkach raka piersi. Ulegając fosforylacji, AIB1 jest aktywowane przez kinazy tyrozynowe, co może powodować uruchomienie szlaków komórkowych, prowadzących do pobudzenia wzrostu komórek, ich proliferacji i migracji [60]. Z tego powodu wysunięto hipotezę, że silna ekspresja aktywnego AIB1 może być związana z mniejszą skutecznością tamoksyfenu, szczególnie w guzach wykazujących nadekspresję receptora ERBB2 [56, 61].

Innym białkiem, które rywalizuje z AIB1 w łączeniu się z elementem regulatorowym *cis ERBB2*, jest białkowy produkt genu *PAX2* (*Paired box 2*). Białko to prawdopodobnie pełni istotną rolę w mechanizmie regulacji *ERBB2* i warunkuje działanie tamoksyfenu w guzach wykazujących ekspresję receptora ERBB2. *PAX2*, łącząc się z receptorem estrogenowym, hamuje aktywację *ERBB2*. Silna ekspresja AIB1 może blokować wiązanie *PAX2* i domeny *cis* genu *ERBB2*, co powoduje hamowanie antyproliferacyjnego działania tamoksyfenu i zwiększa oporność na ten lek. W badaniach na liniach komórkowych wykazano, że w obecności tamoksyfenu stężenie *PAX2* w liniach komórek opornych na działanie tego leku (agresywne guzy ERBB2 – dodatnie) jest znamienne niższe [58]. Prawdopodobnie aktywne hamowanie *ERBB2* przez kompleks ER-*PAX2* i w konsekwencji obniżenie o 40% stężenia białka ERBB2 zachodzi tylko we wrażliwych na działanie tamoksyfenu liniach komórkowych z najczęstszym genotypem (*wild-type*) [58]. W opinii autorów wymienionej pracy potwierdzeniem tej hipotezy jest stwierdzenie, że w grupie 109 chorych z ekspresją receptorów estrogenowych, guzy *PAX2*-dodatnie i AIB1-ujemne związane są z najlepszym rokowaniem. Ponadto w tej grupie najrzadziej (5,8%) występowała nadekspresja receptora ERBB2. Badanie to potwierdza przypuszczenie, że odpowiedź na leczenie tamoksyfenem może być związana z pewną równowagą między ekspresją białek *PAX2* i AIB1. W dwóch dużych randomizowanych badaniach III fazy, porównujących uzupełniające leczenie tamoksyfenem i letrozolem lub anastrozolem, nie wykazano jednak związku ekspresji białka ERBB2 ze

skutecznością leczenia tamoksyfenem, zatem zagadnienie to nadal wymaga wyjaśnienia [11, 62].

### Rola genów *BCAR* w odpowiedzi na tamoksyfen

Od dawna poszukiwane są nowe czynniki rokownicze w raku piersi. Duże zainteresowanie budzą badania nad wartością predykcyjną profilów ekspresji genów w prognozowaniu choroby i odpowiedzi na leczenie systemowe [64-66]. Niedawno wykazano, że obecność niektórych genów, zaliczanych do grupy genów oporności na antyestrogeny w raku piersi (*BCAR* – *breast cancer antiestrogen resistance*), może być związana z gorszą odpowiedzią na tamoksyfen. W retrospektywnej pracy oceniono związek stężenia mRNA 10 różnych genów *BCAR* z odpowiedzią kliniczną w grupie 242 chorych na raka piersi, leczonych tamoksyfenem w pierwszej linii z powodu nawrotu, oraz w grupie 413 chorych bez zajęcia węzłów chłonnych, które nie otrzymywały leczenia uzupełniającego [65]. W grupie leczonej tamoksyfenem wysokie stężenie mRNA *ERBB2* i *GRB7* było związane ze znamienne krótszym czasem do progresji (odpowiednio  $p=0,0004$  i  $p=0,0005$ ), niezależnie od innych czynników rokowniczych. Wzrost stężenia mRNA *BCAR3* i *TLE3* był związany z dłuższym czasem do progresji oraz ze znamienne lepszą odpowiedzią na leczenie tamoksyfenem (odpowiednio  $p=0,045$  i  $p=0,036$ ). W grupie chorych bez przerzutów do pachowych węzłów chłonnych, nie otrzymujących hormonoterapii uzupełniającej, wzrost stężenia mRNA *AKT*, *TLE3* i *TRERF1* związany był z wydłużeniem, natomiast wzrost mRNA *EGFR* – ze skróceniem czasu przeżycia wolnego od przerzutów. Najsilniejszym niekorzystnym czynnikiem rokowniczym był jednoczesny wzrost stężenia *EGFR* i obniżenie *AKT2*. Udział chorych pozostających 10 lat bez przerzutów wynosił w podgrupie najlepiej i najgorzej rokującej odpowiednio 77% i 44% [65].

### Wnioski

Obecny stan wiedzy wskazuje, że skuteczność leczenia tamoksyfenem u chorych na raka piersi może być związana nie tylko z ekspresją receptorów steroidowych, ale także z innymi czynnikami. Określenie genotypu *CYP2D6* może potencjalnie ułatwić wybór optymalnego leczenia hormonalnego. Ocena taka, przeprowadzona w wymazie z komórek błony śluzowej policzka, jest metodą tanią i prostą. Analizy oparte na matematycznym modelowaniu sugerują, że uwzględnienie genotypu *CYP2D6* w badaniach klinicznych, porównujących tamoksyfen i inhibitory aromatazy, mogłoby istotnie zmienić ich ostateczne wyniki. Potwierdzenie tej hipotezy w prospektywnych badaniach klinicznych może mieć istotne praktyczne implikacje. Równoczesne stosowanie leków z grupy SSRI oraz innych leków metabolizowanych przez cytochrom P450 może istotnie zmniejszyć skuteczność działania tamoksyfenu. Szczególnie dotyczy to łągodzenia tzw. „uderzeń gorąca”, które są zwykle przejawem prawidłowego przeciwnowotworowego działania tamoksyfenu. Równowaga pomiędzy białkami *PAX2* oraz

AIB1 wydaje się mieć istotne znaczenie w odpowiedzi na leczenie tamoksyfenem poprzez wpływ na ekspresję ERBB2. Potwierdzenie tej hipotezy wymaga jednak dalszych badań. Ocena genów z grupy *BCAR* może okazać się w przyszłości przydatnym czynnikiem rokowniczym u chorych na raka piersi, a także ułatwić przewidywanie rezultatu leczenia tamoksyfenem.

**Lek. Magdalena Wieczorek-Rutkowska**  
Klinika Onkologii i Radioterapii  
Uniwersytet Medyczny w Gdańsku  
ul. Dębinki 7 80-211 Gdańsk  
e-mail: magw75@wp.pl

## Piśmiennictwo

- Osborne CK. Tamoxifen in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 1998; 339: 1609-18.
- Ellis PA, Saccani-Jotti G, Clarke R i wsp. Induction of apoptosis by tamoxifen and ICI 182780 in primary breast cancer. *Int J Cancer* 1997; 72: 608-13.
- Osborne CK, Hobbs K, Clark GM. Effect of estrogens and antiestrogens on growth of human breast cancer cells in athymic nude mice. *Cancer Res* 1985; 45: 584-90.
- Clarke R, Liu MC, Bouker KB i wsp. Antiestrogen resistance in breast cancer and the role of estrogen receptor signaling. *Oncogene* 2003; 22: 7316-39.
- Love RR, Mazess RB, Barden HS i wsp. Effects of tamoxifen on bone mineral density in postmenopausal women with breast cancer. *N Eng J Med* 1992; 326: 852-6.
- Love RR, Newcomb PA, Wiebe DA i wsp. Effects of tamoxifen therapy on lipid and lipoprotein levels in postmenopausal patients with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1327-32.
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomized trials. *Lancet* 1998; 351: 1451-67.
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomized trials. *Lancet* 2005; 365: 1687-717.
- Veronesi U, Maisonneuve P, Rotmensz N i wsp. Tamoxifen for the prevention of breast cancer: late result of the Italian randomized tamoxifen prevention trial among women with hysterectomy. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 727-737.
- ATAC Trialists' Group. Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early breast cancer: result of the ATAC trial efficacy and safety update analyses. *Cancer* 2003; 98: 1802.
- ATAC Trialists' Group. Arimidex, tamoxifen alone or in combination. *Lancet Oncol* 2008; 9: 45-53.
- Coates AS, Keshaviah A, Thurlimann B i wsp. Five years of letrozol compared with tamoxifen as initial adjuvant therapy for postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer: update of study BIG 1-98. *J Clin Oncol* 2007; 25: 486-92.
- Boccardo F, Rubagotti A, Puntoni M i wsp. Switching to anastrozole versus continued tamoxifen treatment of early breast cancer. Preliminary results of the Italian tamoxifen anastrozole trial. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5138-47.
- Jakesz R, Jonat W, Gnani M i wsp. Switching of postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer to anastrozole after 2 years' adjuvant tamoxifen: combined results of ABCSG trial 8 and ARNO 95 trial. *Lancet* 2005; 366: 455-62.
- Coombes RC, Kilburn LS, Snowdon CF i wsp. Survival and safety of exemestane versus tamoxifen after 2-3 years' tamoxifen treatment (Intergroup Exemestane Study): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 369: 559-70.
- Coombes RC, Hall E, Gibson LJ i wsp. A randomized trial of exemestane after two to three years of tamoxifen therapy in postmenopausal women with primary breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 1081-92.
- Johnson MD, Zuo H, Lee KH i wsp. Pharmacological characterization of 4-hydroxy-N-desmethyl tamoxifen, a novel active metabolite of tamoxifen. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 85: 151-9.
- Crewe HK, Ellis SW, Lennard MS i wsp. 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.
- Desta Z, Ward BA, Soukhova NV i wsp. Comprehensive evaluation of tamoxifen sequential biotransformation by the human cytochrome P450 system in vitro: prominent roles for CYP3A and CYP2D6. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 310: 1062-75.
- Stearns V, Johnson MD, Rae JM i wsp. Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1758-64.
- Hawse JR, Wu X, Subramaniam M i wsp. Endoxifen, but not 4-hydroxytamoxifen, degrades the estrogen receptor in breast cancer cells: a differential mechanism of action potentially explaining CYP2D6 effect. 31th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium; 10-14 December 2008 (abstract 19).
- Hartl DL, Jones EW. DNA structure and genetic variation. W: Hartl DL, Jones EW, (red.) *Genetics. Analysis of genes and genomes*. Wyd. 5. Uniwersytet Michigan: Jones and Bartlett; 2001, s. 65-72.
- Kwok PY. Methods for genotyping single nucleotide polymorphisms. *Annu Rev Genom Genet* 2001; 2: 235-58.
- Asmussen MA, Cleg MT. Use of restriction fragment length polymorphisms for genetic counseling: Population genetic considerations. *Am J Hum Genet* 1982; 34: 369-80.
- Dahl ML, Johansson I, Palmertz MP i wsp. Analysis of CYP2D6 gene in relation to debrisoquin and desipramine hydroxylation in a Swedish population. *Clin Pharmacol Ther* 1992; 51: 12-7.
- Sachse C, Brockmoller J, Bauer S i wsp. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 284-95.
- Nakamura K, Goto F, Ray WA i wsp. Interethnic differences in genetic polymorphism of debrisoquin and mephenytoin hydroxylation between Japanese and Caucasian populations. *Clin Pharmacol Ther* 1985; 38: 402-8.
- Nakamura K, Ariyoshi N, Yokoi T i wsp. CYP2D6.10 present in human liver microsomes shows low catalytic and thermal stability. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293: 969-73.
- Zanger UM, Raimundo R, Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Arch Pharmacol* 2004; 369: 21-37.
- Borges S, Desta Z, Li L i wsp. Quantitative effect of CYP2D6 genotype and inhibitors on tamoxifen metabolism: implication for optimization of breast cancer treatment. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80: 61-74.
- Jin Y, Desta Z, Stearns V i wsp. CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism during adjuvant breast cancer treatment. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 30-9.
- Goetz MP, Rae JM, Suman VJ i wsp. Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *J Clin Oncol* 2005; 23: 9312-8.
- Bonanni B, Macis D, Maisonneuve P i wsp. Polymorphism in the CYP2D6 tamoxifen metabolizing gene influences clinical effect but not hot flashes-data from the Italian tamoxifen trial. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3708-9.
- Nowell SA, Ahn J, Rae JM i wsp. 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.
- Wegman P, Elingarami S, Carstensen J i wsp. Genetic variants of CYP3A5, CYP2D6, SULT1A1, UGT2B15 and tamoxifen response in postmenopausal patients with breast cancer. *Breast Cancer Res* 2007; 9: R7.
- Wegman P, Vainikka L, Stal O i wsp. Genotype of metabolic enzymes and the benefit of tamoxifen in postmenopausal breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2005; 7: R284-R290.
- Hayes DF, Stearns V, Rae J i wsp. A model citizen? Is tamoxifen more effective than aromatase inhibitors if we pick the right patients? *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 610-3.
- Kiyotani K, Mushiroda T, Sasa M i wsp. Impact of CYP2D6\*10 on recurrence-free survival in breast cancer patients receiving adjuvant tamoxifen therapy. *Cancer Sci* 2008; 99: 1706-7.
- Lim HS, Lee HJ, Lee KS i wsp. Clinical implications of CYP2D6 genotypes predictive of tamoxifen pharmacokinetics in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3837-45.
- Xu Y, Sun Y, Yao L i wsp. Association between CYP2D6 \*10 genotype and survival of breast cancer patients receiving tamoxifen treatment. *Ann Oncol* 2008; 19: 1423-29.

41. Okishiro M, Taguchi T, Jin Kim S i wsp. Genetic polymorphisms of CYP2D6 10 and CYP2C19 2, 3 are not associated with prognosis, endometrial thickness, or bone mineral density in Japanese breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen. *Cancer* 2009; 115: 952-61.
42. Punglia RS, Burstein HJ, Winer EP i wsp. Pharmacogenomic variation of CYP2D6 and the choice of optimal adjuvant endocrine therapy for postmenopausal breast cancer: a modeling analysis. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 642-648.
43. Martinez C, Albert C, Agundez JA i wsp. Comparative in vitro and in vivo inhibition of cytochrome P450 CYP1A2, CYP2D6, and CYP3A by H2-receptor antagonists. *Clin Pharmacol Ther* 1991; 65: 369-376.
44. Funck-Brentano C, Jacqz-Aigrain E, Leenhardt A i wsp. Influence of amiodarone on genetically determined drug metabolism in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1991; 50: 259-266.
45. Szewczuk-Boguslawska M, Kiejna A, Beszlej JA i wsp. Doxepin inhibits CYP2D6 activity in vivo. *Pol J Pharmacol* 2004; 56: 491-494.
46. Shin JG, Kane K, Flockhart DA. Potent inhibition of CYP2D6 by haloperidol metabolites: stereoselective inhibition by reduced haloperidol. *Br J Clin Pharmacol* 2001; 51: 45-52.
47. Ko JW, Desta Z, Soukhova NV i wsp. In vitro inhibition of the cytochrome P450 (CYP450) system by the antiplatelet drug ticlopidine: potent effect on CYP2C19 and CYP2D6. *Br J Clin Pharmacol* 2000; 49: 343-51.
48. Loprinzi CL, Sloan JA, Perez EA i wsp. Phase III evaluation of fluoxetine for treatment of hot flashes. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1578-83.
49. Loprinzi CL, Kugler JW, Sloan JA i wsp. Venlafaxine in management of hot flashes in survivors of breast cancer: a randomised controlled trial. *Lancet* 2000; 356: 2059-63.
50. Stearns V, Ullmer L, Lopez JF i wsp. Hot flushes. *Lancet* 2002; 360: 1851-61.
51. Mortimer JE, Flatt SW, Parker BA i wsp. Tamoxifen, hot flashes, and recurrence in breast cancer. *Breast Cancer Res Treatment* 2008; 108: 421-6.
52. Goetz MP, Charles LL. A hot flash on tamoxifen metabolism. *J Natl Cancer Inst* 2003 95: 1734-5.
53. Aubert RE, Stanek EJ, Yao J i wsp. Risk of breast cancer recurrence in women initiating tamoxifen with CYP2D6 inhibitors. *J Clin Oncol* 2009; 27 (Supl): 9s (abstrakt).
54. Dezentje V, Van Blijderveen J, Gelderblom H i wsp. Concomitant CYP2D6 inhibitor use and tamoxifen adherence in early-stage breast cancer: A pharmacoepidemiologic study. *J Clin Oncol* 2009; 27 (Supl): 9s (abstrakt).
55. Schroth W, Antoniadou L, Fritz P i wsp. Breast cancer treatment outcome with adjuvant tamoxifen relative to patent CYP2D6 and CYP2C19 genotypes. *J Clin Oncol* 2007; 25: 5187-93.
56. Osborne CK, Bardou V, Hopp TA i wsp. Role of the estrogen receptor coactivator AIB1 (SRC-3) and HER-2/neu in tamoxifen resistance in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 353-61.
57. Ellis MJ, Coop A, Singh B i wsp. Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine therapy than tamoxifen for ErbB-1- and/or ErbB-2-positive, estrogen receptor-positive primary breast cancer: evidence from a phase III randomized trial. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3795-7.
58. Hurtado A, Holmes KA, Geistlinger TR i wsp. Regulation of ERBB2 by oestrogen receptor-PAX2 determines response to tamoxifen. *Nature* 2008; 456: 663-6.
59. McKenna NJ, Lanz RB, O'Malley BW. Nuclear receptors coregulators: cellular and molecular biology. *Endocr Rev* 1999; 20: 321-44.
60. Ali S, Metzger D, Bornert JM, Chambon P. Modulation of transcriptional activation by ligand-dependent phosphorylation of the human oestrogen receptor A/B region. *EMBO J* 1993; 12: 1153-60.
61. Benz CC, Scott GK, Sarup JC i wsp. Estrogen-dependent, tamoxifen-resistant tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER2/neu. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 24: 85-95.
62. Rasmussen BB, Regan MM, Lykkesfeldt AE i wsp. Adjuvant letrozole versus tamoxifen according to centrally-assessed ERBB2 status for postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer: supplementary results from the BIG 1-98 randomised trial. *Lancet Oncol* 2008; 9: 23-8.
63. Goetz MP, Knox SK, Suman VJ i wsp. The impact of cytochrom P450 2D6 metabolism in women receiving adjuvant tamoxifen. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 101: 113-21.
64. Jansen MP, Foekens JA, van Staveren IL i wsp. Molecular classification of tamoxifen-resistant breast carcinomas by gene expression profiling. *J Clin Oncol* 2005; 23: 732-40.
65. van Agthoven T, Sieuwerts AM, Meijer-van Gelder ME i wsp. Relevance of breast cancer antiestrogen resistance genes in human breast cancer progression and tamoxifen resistance. *J Clin Oncol* 2009; 27: 542-9.
66. Acharya CR, Hsu DS, Anders CK i wsp. Gene expression signatures, clinicopathological features, and individualized therapy in breast cancer. *JAMA* 2008; 299: 1574-877.

Otrzymano: 19 maja 2009 r.

Przyjęto do druku: 6 lipca 2009 r.