Farmacogenomica della terapia con tamoxifene

Hiltrud Brauch[1,2], Thomas E. Mürdter[1,2], Michel Eichelbaum[1,2], Matthias Schwab[1,2,3]
[1]Dr. Margarete Fischer-Bosch Institute of Clinical Pharmacology, Stuttgart, Germany
[2]University Tübingen, Tübingen, Germany
[3]Department of Clinical Pharmacology, University Hospital Tübingen, Tübingen, Germany

Traduzione a cura di Maurizio Ferrari, Monica Zanussi

ABSTRACT

Pharmacogenomics of tamoxifen therapy. Tamoxifen is a standard endocrine therapy for the prevention and treatment of steroid hormone receptor–positive breast cancer. Tamoxifen requires enzymatic activation by cytochrome P450 (CYP) enzymes for the formation of active metabolites 4-hydroxytamoxifen and endoxifen. As compared with the parent drug, both metabolites have an approximately 100-fold greater affinity for the estrogen receptor and the ability to inhibit cell proliferation. The polymorphic CYP2D6 is the key enzyme in this biotransformation, and recent mechanistic, pharmacologic, and clinical evidence suggests that genetic variants and drug interaction by CYP2D6 inhibitors influence the plasma concentrations of active tamoxifen metabolites and the outcomes of tamoxifen-treated patients. In particular, nonfunctional (poor metabolizer) and severely impaired (intermediate metabolizer) CYP2D6 alleles are associated with higher recurrence rates. Accordingly, CYP2D6 (cytochrome P450, family 2, subfamily D, polypeptide 6) genotyping before treatment to predict metabolizer status may open new avenues for individualizing endocrine treatment, with the maximum benefit being expected for extensive metabolizers. Moreover, strong CYP2D6 inhibitors such as the selective serotonin reuptake inhibitors paroxetine and fluoxetine, which are used to treat hot flashes, should be avoided because they severely impair formation of the active metabolites.

INTRODUZIONE

La farmacogenomica degli enzimi che metabolizzano i farmaci coinvolti nella biotrasformazione del tamoxifene è diventata un'area di grande interesse, grazie al suo potenziale per predire l'esito del trattamento di un soggetto con tumore mammario prima di iniziare la cura. Se il paradigma della farmacogenomica del tamoxifen dovesse essere confermato, i pazienti eleggibili per il trattamento endocrino potrebbero sfruttarlo, optando per una terapia personalizzata più efficace. La maggior parte dei tumori al seno, in particolare quelli delle donne in postmenopausa, sono positivi al recettore ormonale, di conseguenza, centinaia di migliaia di donne in tutto il mondo iniziano il trattamento endocrino ogni anno. Sulla base dei risultati dell'"Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group", la raccomandazione standard è stata 5 anni di terapia con il tamoxifene come modulatore selettivo per il recettore degli estrogeni (ER) (1). Il tamoxifene è attualmente prescritto in più di 120 paesi in tutto il mondo come componente standard della terapia adiuvante nel carcinoma mammario precoce e nella terapia palliativa in presenza di metastasi per le pazienti con tumore al seno ER-positivo. Nel carcinoma mammario primario, l'impiego del tamoxifene riduce significativamente i tassi di recidiva e di mortalità nelle pazienti in pre- e postmenopausa e il beneficio della terapia adiuvante con tamoxifene permane anche oltre 10 anni dopo la prima diagnosi (1). Nelle donne in postmenopausa con malattia sensibile alla terapia ormonale, il tamoxifene è una valida opzione terapeutica, insieme agli inibitori dell'aromatasi (IA) (2) ed è considerato il trattamento standard per la prevenzione del tumore mammario invasivo nelle donne in premenopausa ad alto rischio, comprese quelle che hanno avuto un carcinoma duttale in situ (3), e per il trattamento del carcinoma della mammella negli uomini (4). Il tamoxifene è generalmente ben tollerato e i sintomi della menopausa, tra cui le vampate di calore, sono gli effetti collaterali più comuni. Sono rari gli effetti collaterali gravi, come eventi tromboembolici o insorgen-

**Questo articolo è stato tradotto con il permesso dell'American Association for Clinical Chemistry (AACC). AACC non è responsabile della correttezza della traduzione. Le opinioni presentate sono esclusivamente quelle degli Autori e non necessariamente quelle dell'AACC o di Clinical Chemistry. Tradotto da Clin Chem 2009;55:1770-82 su permesso dell'Editore.*
Copyright originale © 2009 American Association for Clinical Chemistry, Inc. In caso di citazione dell'articolo, riferirsi alla pubblicazione originale in Clinical Chemistry.

za di carcinoma dell'endometrio (1). Il beneficio clinico del tamoxifene è stato evidente per più di 3 decenni, anche se fino al 50% dei pazienti in terapia adiuvante con tamoxifene hanno una recidiva o muoiono a causa di resistenza del tumore o per fattori associati al genoma del paziente.

Il campo della farmacogenomica del tamoxifene ha acquisito un significativo impulso dalla conoscenza del metabolismo del tamoxifene e della farmacologia del metabolita, attraverso studi che hanno identificato i principali metaboliti attivi formati dagli enzimi del citocromo P450 (CYP), in particolare CYP2D6, che presentano marcati polimorfismi genetici e fenotipici. Numerosi studi clinici hanno evidenziato la relazione tra genotipo e/o varianti fenotipiche con gli esiti clinici della terapia con tamoxifene e progetti internazionali sono attualmente in corso per chiarire questa relazione.

Ipotizzando una futura introduzione della farmacogenomica del tamoxifene nella pratica clinica, questa rassegna si propone di esaminare i principi farmacologici, genetici e fenotipici alla base dell'efficacia del tamoxifene. Essa mette in particolare evidenza la biotrasformazione del tamoxifene in metaboliti primari e secondari con attenzione ai metaboliti clinicamente attivi idrossitamoxifene e 4-idrossi-N-desmetiltamoxifene (endoxifene). A causa del ruolo chiave di CYP2D6, questa rassegna si concentra sui rapporti tra il genotipo e il fenotipo di *CYP2D6* (citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia D, polipeptide 6)[1]. La discussione include anche l'effetto fenocopia degli inibitori del CYP2D6, che sono spesso somministrati contemporaneamente per alleviare le vampate di calore nelle donne in postmenopausa trattate con tamoxifene. Questi risultati della ricerca di base forniscono il substrato scientifico per una discussione approfondita della letteratura attualmente disponibile sugli studi di farmacogenetica del tamoxifene. Infine, esiste la possibilità che altri enzimi che metabolizzano farmaci e persino fattori non metabolici possano influenzare l'efficacia del tamoxifene. Nel considerare questi argomenti, questa rassegna offre una panoramica dei principi della pratica emergente di medicina personalizzata per il miglioramento degli esiti del trattamento endocrino nel cancro della mammella.

METABOLISMO DEL TAMOXIFENE E METABOLITI ATTIVI

trans-Tamoxifene {(Z)-2-[4-(1,2-difenilbut-1-enil)-fenossi]-N,N-dimetil-etanamina} è sottoposto a livello epatico a una complessa trasformazione metabolica (Figura 1). La bioconversione del tamoxifene coinvolge N-ossidazione, N-demetilazione e idrossilazione. La formazione del principale metabolita N-desmetiltamoxifene è primariamente catalizzata da CYP3A4 e da 3A5, con contributi minori da parte dei CYP2D6, 1A1, 1A2, 2C19 e 2B6 (5-7). La concentrazione plasmatica "steady-state" di N-desmetiltamoxifene dopo somministrazione di 20 mg di tamoxifene al giorno per almeno 3 mesi è circa due volte superiore a quella del farmaco (100-290 μg/L vs. 72-160 μg/L) (8-14). Questo dato è di estrema importanza clinica perché il N-desmetiltamoxifene è soggetto a idrossilazione, prevalentemente in posizione para, con produzione di endoxifene, il principale metabolita clinicamente attivo. È importante sottolineare che la conversione di N-desmetiltamoxifene in endoxifene è catalizzata quasi esclusivamente dal CYP2D6 (15, 16). Le concentrazioni plasmatiche di endoxifene sono state riportate in un intervallo tra una media di 8,1 μg/L per pazienti con due varianti alleliche CYP2D6 e 20,7 μg/L per pazienti con 2 alleli "wild-type" (17). Inoltre, N-desmetiltamoxifene può anche essere demetilato dal CYP3A4 a formare N,N-didesmetiltamoxifene.

Un altro metabolita clinicamente attivo è il 4-idrossitamoxifene, che è formato dall'idrossilazione in posizione para dell'anello fenilico del farmaco originario. Questa conversione è catalizzata da un certo numero di CYPs, tra cui CYP2D6, 3A4, 2C9, 2B6 e 2C19 (7, 18-21). Se paragonate con l'endoxifene, le concentrazioni basali di 4-idrossitamoxifene sono più basse, variando tra 1,15 μg/L e 6,4 μg/L (11, 14, 22). Con l'eccezione di endoxifene e 4-idrossitamoxifene, nessun altro metabolita fortemente attivo è stato finora descritto.

Un'ulteriore idrossilazione ha luogo anche nella posizione 4' dell'altro anello fenilico, originando 4'-idrossitamoxifene, che è mediato principalmente da CYP2B6 e 2D6 (7), e 4'-idrossi-N-desmetiltamoxifene. Un altro metabolita idrossilato, α-idrossitamoxifene, è prodotto principalmente dal CYP3A4 (5, 6, 23, 24).

I metaboliti idrossilati in posizione 4 subiscono *in vitro* una isomerizzazione chimica, rispettivamente, in isomeri E o cis (25), che sono deboli antagonisti degli ER. Inoltre, l'isomerizzazione di 4-idrossitamoxifene è catalizzata da CYP1B1, 2B6 e 2C19 (7). Da notare che un accumulo di *cis*-4-idrossitamoxifene è stato osservato nei tessuti tumorali di pazienti affetti da tumore resistente al trattamento con tamoxifene (26); tuttavia, poichè i dati sulle concentrazioni plasmatiche degli isomeri cis sono scarsi, questa osservazione può essere considerata preliminare. L'idrossilazione addizionale del 4-idrossitamoxifene da parte di CYP3A4 e 2D6 nell'anello fenilico porta a 3,4-diidrossitamoxifene (27), un composto che è in grado di legarsi in modo covalente alle proteine e al

[1]*Geni umani: CYP2D6, citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia D, polipeptide 6; CYP2D7P1, citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia D, polipeptide 7 pseudogene 1; CYP2D7P2, citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia D, polipeptide 7 pseudogene 2; CYP2D8P1, citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia D, polipeptide 8 pseudogene 1; CYP2D8P2, citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia D, polipeptide 8 pseudogene 2; CYP2C9, citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia C, polipeptide 9; CYP2C19, citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia C, polipeptide 19; CYP2B6, citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia B, polipeptide 6; CYP3A4, citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia A, polipeptide 4; CYP3A5, citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia A, polipeptide 5; SULT1A1, famiglia sulfotransferasi, citosolica, 1A, fenolo-preferendo, membro 1; BRCA1, cancro mammario 1, ad esordio precoce; BRCA2, cancro mammario 2, ad esordio precoce.*

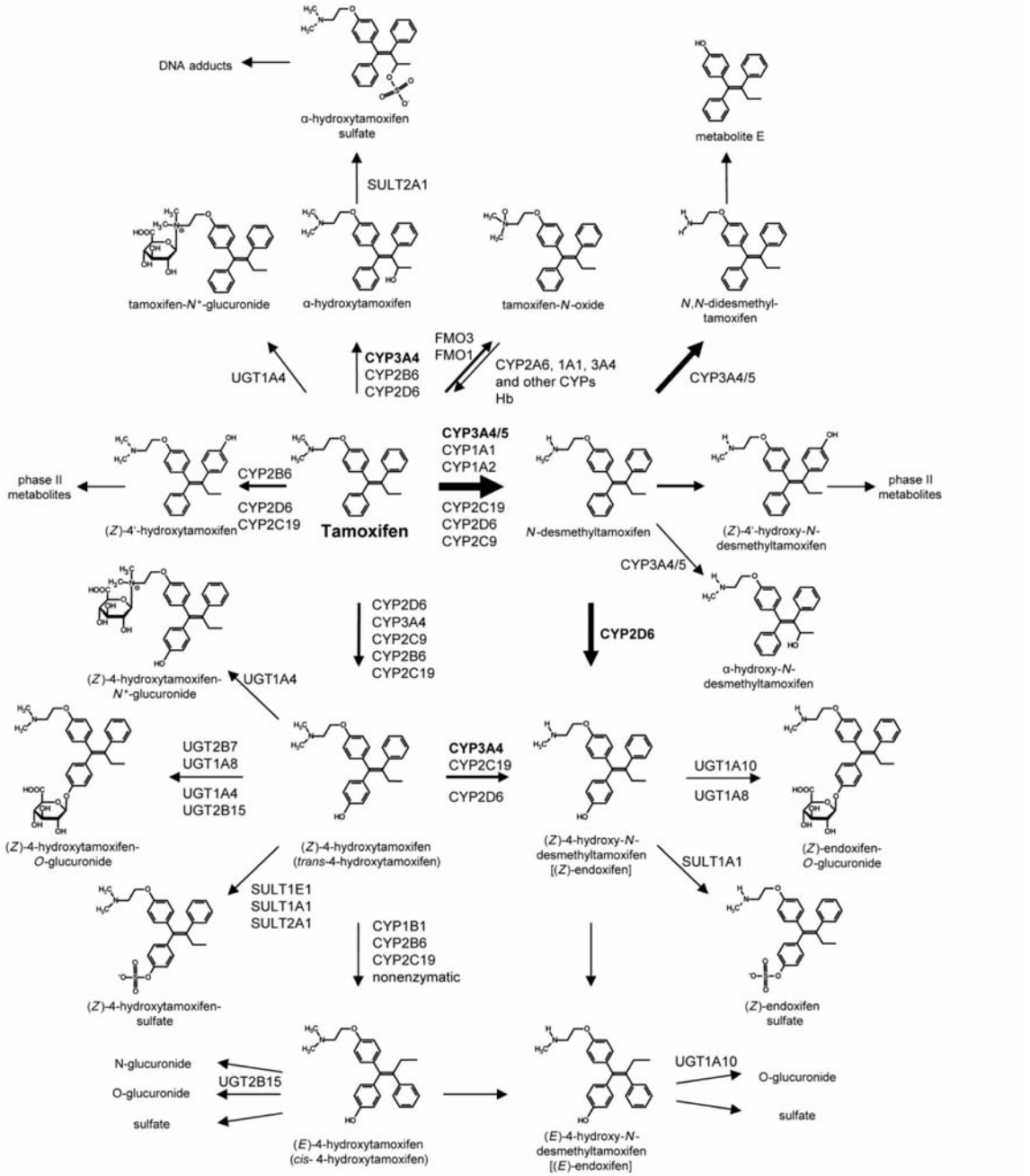


Figura 1
Metabolismo del tamoxifene nell'uomo.
Le principali vie metaboliche sono evidenziate con frecce in grassetto. Gli enzimi che catalizzano in modo preferenziale una distinta via metabolica sono indicati in grassetto.
Hb, emoglobina; FMO1, flavina contenente monossigenasi 1.

DNA, contribuendo in tal modo agli effetti tossici e cancerogeni associati al trattamento con tamoxifene (28, 29).

Un'altra via del metabolismo del tamoxifene è la formazione di tamoxifene-N-ossido per mezzo delle monossigenasi 1 e 3 contenenti flavina, con la possibilità per il tamoxifene-N-ossido di essere ridotto di nuovo a tamoxifene da una serie di CYPs differenti, tra cui CYP2A6, 1A1, 3A4 e altri (30, 31). Da un punto di vista analitico, tuttavia, tale metabolita non può essere ignorato a causa della probabilità di riduzione chimica degli N-ossidi durante la preparazione del campione, motivo per cui la quantificazione del tamoxifene-N-ossido può essere considerata un problema nell'analisi dei metaboliti del tamoxifene. Finora pochi dati al riguardo sono disponibili, suggerendo che il metabolita N-ossido conti nel plasma di una paziente per meno del 15% del tamoxifene totale (32).

La solfatazione e la glucuronidazione sono i meccanismi principali a livello della fase II del metabolismo del tamoxifene. La O-glucuronidazione del 4-idrossitamoxifene è mediata principalmente dalle UDP-glucuronosiltransferasi (UGTs) UGT1A4, 2B15, 2B7, 1A8 per la produzione di 4-idrossitamoxifene-O-glucuronide (33-35). L'endoxifene è prevalentemente glucuronato tramite UGT1A10 e 1A8 al corrispondente O-glucuronide. Importante è che, oltre ai metaboliti idrossilati che subiscono il metabolismo di fase II del gruppo idrossile, anche il tamoxifene stesso è coniugato da UGT1A4 al corrispondente N^+-glucuronide (36, 37). Al contrario dell'endoxifene, che non forma alcun N^+-glucuronide, il 4-idrossitamoxifene è glucuronato da UGT1A4 nel gruppo amminico con la produzione di 4-idrossitamoxifene-N^+-glucuronide (34, 37). La formazione di solfati da 4-idrossitamoxifene ed endoxifene è catalizzata dalle sulfotransferasi (SULTs) SULT1E1, 1A1 e 2A1 (32, 38). Gli isomeri E di 4-idrossitamoxifene ed endoxifene sono anche substrati per queste reazioni di coniugazione, ma sembrano avere affinità differenti per diversi isoenzimi (33). L'α-idrossitamoxifene è solfatato da SULT2A1 (39); il risultante α-idrossitamoxifene solfato è sospettato di avere effetti cancerogeni dopo il suo legame covalente al DNA (40, 41).

Sebbene il numero di metaboliti del tamoxifene che sono stati identificati *in vitro* sia grande (Figura 1), *in vivo* i dosaggi di campioni di plasma di pazienti trattate con tamoxifene hanno evidenziato pochi metaboliti, tra cui N-desmetiltamoxifene, endoxifene, 4-idrossitamoxifene, N, N-didesmetiltamoxifene, α-idrossitamoxifene e tamoxifene-N-ossido (Tabella 1). Pertanto, potrebbero esserci e altri metaboliti del tamoxifene non ancora identificati presenti in concentrazioni significative nel plasma delle pazienti.

BIOCHIMICA E GENETICA DI CYP2D6

CYP2D6 è un componente della famiglia 2 degli enzimi CYP, che negli esseri umani costituisce un terzo di tutti i CYPs ed è una famiglia delle più ampie e meglio studiate di questi isoenzimi. I CYPs umani sono monossigenasi contenenti il gruppo eme e il genoma umano contiene 57 geni CYP e circa lo stesso numero di pseudogeni raggruppati in base ad affinità di sequenza in 18 famiglie e 44 sottofamiglie (http://drnelson.utmem.edu/Cyto-chromeP450.html). CYP2D6 è coinvolto nel metabolismo di molti farmaci clinicamente importanti, tra cui β-bloccanti, antiaritmici, antipertensivi, antipsicotici, antidepressivi, oppioidi e altri. Una recente analisi delle vie di eliminazione per i "200 farmaci top" negli Stati Uniti (http://www.rxlist.com; i 200 farmaci maggiormente prescritti, aprile 2008) ha mostrato che il 15% erano i farmaci che sono substrati del CYP2D6, rispetto alle sottofamiglie CYP3A (37%) e CYP2C (33%) (42).

Il locus umano *CYP2D6* sul cromosoma 22 contiene il gene *CYP2D6* e gli pseudogeni *CYP2D7P1* (citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia D, polipeptide 7 pseudogene 1), *CYP2D7P2* (citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia D, polipeptide 7 pseudogene 2), *CYP2D8P1* (citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia D, polipeptide 8 pseudogene 1), *CYP2D8P2* (citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia D, polipeptide 8 pseudogene 2) originariamente descritti come pseudogeni CYP2D7 e CYP2D8

Tabella 1
Tamoxifene e suoi metaboliti

Composto chimico	Concentrazioni plasmatiche medie, nmol/L[a]	Effetto su ER/affinità per ER (estradiolo = 100%)	Coinvolgimento di CYP2D6
Tamoxifene	190–420	Debole antagonista/2%[b]	-
N-Desmetiltamoxifene	280–800	Debole antagonista/1%[b]	Basso
N,N-Didesmetiltamoxifene	90–120	Debole antagonista	Assente
Endoxifene	14–130	Forte antagonista/uguale a 4-idrossitamoxifene	Quasi esclusivo
4-Idrossitamoxifene	3–17[c]	Forte antagonista/188%[b]	Tra gli altri
α-Idrossitamoxifene	1	Nessuno	Assente
3,4-Didrossitamoxifene	Non disponibili	Debole antagonista/alta affinità	Associato al CYP3A4
Tamoxifene-N-ossido	15–24	Debole antagonista[d]	Assente
4-Idrossitamoxifene-O-glucuronide	Non disponibili	Non antagonista[e]	Vedi 4-idrossitamoxifene
4-Idrossitamoxifene-N^+-glucuronide	Non disponibili	Non antagonista[e]	Vedi 4-idrossitamoxifene
Endoxifene-O-glucuronide	Non disponibili	Non antagonista[e]	Vedi endoxifene
α-Idrossitamoxifene solfato	Non disponibili	Non disponibile	Assente

[a]*Intervallo di concentrazioni plasmatiche medie secondo differenti Autori (9-12, 14, 17, 22, 32, 108).*
[b]*Secondo Wakeling and Slater (109).*
[c]*MacCallum et al. (13) hanno riportato concentrazioni molto più alte (67 nmol/L).*
[d]*Potrebbe essere dovuto alla riduzione a tamoxifene.*
[e]*Secondo Lazarus et al. (110).*
ER, recettore degli estrogeni.

(43). Il gene *CYP2D6* è composto da 9 esoni e 8 introni e la sequenza è altamente polimorfica. Attraverso l'osservazione clinica [la somministrazione di sparteina, farmaco antiaritmico e oxocitico (44) e di debrisochina, agente antipertensivo (45)], la prima variante fenotipica CYP2D6 (polimorfismo sparteina/debrisochina) differente da un fenotipo "extensive metabolizer" (EM) è stata identificata più di 30 anni fa ed è stata definita fenotipo a "metabolismo ridotto" (PM). Attualmente, 4 fenotipi del CYP2D6 sono comunemente osservati nella popolazione caucasica sulla base delle loro capacità di ossidazione del farmaco: EM, metabolizzatore intermedio (IM), PM e metabolizzatore ultrarapido (UM) (46-48). Tra i caucasici, circa il 7%-10% degli individui sono PM, 10%-15% sono IM e, all'estremo opposto dello spettro di attività, non più del 10%-15% sono UM.

Lo stato di PM può essere dedotto con una certezza >99% dalla presenza di 2 alleli non funzionali, con un totale di più di 20 alleli non funzionali identificati (43). Pertanto, è possibile prevedere esattamente il fenotipo CYP2D6 PM (cioè la mancanza di funzione catalitica dell'enzima) con la genotipizzazione del DNA del paziente senza la necessità di fenotipizzare (42, 46, 48, 49). Il fenotipo EM è dovuto alla presenza di 1 o 2 varianti alleliche con funzione "wild-type", come *1 o *2. Questo fenotipo può essere separato in base al genotipo in EM omozigote o eterozigote, a seconda se portatore di 1 o 2 alleli funzionali. Poiché EM eterozigoti che sono portatori dell'allele *1 o *2 in combinazione con un allele IM o PM hanno in qualche modo una ridotta produzione e funzione dell'enzima, essi sono stati classificati come IM, ipotizzando un effetto gene-dosaggio tale che EM eterozigoti dovrebbero avere solo il 50% della quantità dell'enzima e dell'attività catalitica di EM omozigoti. Tuttavia, questa ipotesi non è corretta e vi è una notevole sovrapposizione tra EM omozigoti ed eterozigoti sia per contenuto di enzimi che per loro attività. Pertanto, il genotipo ha un valore predittivo piuttosto scarso. Si deve tener presente che IM ha un fenotipo e genotipo distinti dall'eterozigote EM (47, 50-52) che coinvolge un'alterata espressione genica e funzione enzimatica (queste varianti includono *9, *10 e *41) e/o varianti non funzionali (47, 52). All'interno della popolazione tedesca, il 2%-3% dei soggetti sono portatori di una duplicazione e/o più copie del gene *CYP2D6* e quindi hanno una attività enzimatica molto alta (UM). Queste differenze nell'attività enzimatica possono avere profonde conseguenze sulle concentrazioni plasmatiche dei metaboliti del farmaco, come è stato osservato per la nortriptilina, un antidepressivo triciclico. Una differenza >30 volte tra PM e UM delle concentrazioni plasmatiche allo stato di equilibrio di nortriptilina è stata osservata quando la nortriptilina era prescritta con dose standard giornaliera di 100-150 mg (53, 54). Per quanto riguarda il fenotipo di UM, tuttavia, solo il 20%-30% dei fenotipi UM osservati nella popolazione caucasica sono identificabili mediante genotipizzazione (46, 48, 55).

Finora, l'analisi genetica sistematica di un gran numero di individui ha portato alla scoperta di più di 100 alleli differenti [http://www.cypalleles.ki.se (56)]. Almeno 15 di questi alleli codificano per prodotti genetici non funzionali causati da "splicing" aberrante, codoni nonsenso, mutazioni di coppie di basi, piccole inserzioni/delezioni, grandi delezioni cromosomiche dell'intero gene *CYP2D6*, geni ibridi *CYP2D6/CYP2D7* o mutazioni che causano la mancanza di incorporazione di eme o comunque producono proteine "full-length" non funzionali.

Ci sono significative differenze etniche rispetto alle frequenze di PM, IM e UM, che fanno prevedere che differenti gruppi etnici possano avere una differente risposta clinica ad una farmacoterapia con substrati del CYP2D6. All'interno di questo contesto è importante rendersi conto che la frequenza di duplicazione genica è molto più alta nelle popolazioni del nord-est dell'Africa [ad esempio, il 29% in Etiopia (57)] e dell'Arabia Saudita [21% (58)] rispetto a popolazioni di origine europea (59, 60). Nelle popolazioni asiatiche, tuttavia, è prevalente IM associata a CYP2D6 *10 (61), con una frequenza stimata al 57% nei cinesi Han, e il PM ha un ruolo minore (59).

Nel complesso, la conoscenza della relazione genotipo-fenotipo per *CYP2D6* può influenzare le decisioni di trattamento, in particolare nei casi in cui sia disponibile un'efficace alternativa terapeutica. Come nel caso della codeina somministrata per via orale, che nel 10% dei caucasici che sono PM non è metabolizzata in modo efficiente a morfina e quindi offre scarso effetto analgesico, esiste la possibilità che le donne con genotipo/fenotipo *CYP2D6* PM o IM pure non beneficino degli effetti antiestrogenici del tamoxifene, a causa dell'insufficiente produzione di metaboliti attivi. Per quanto riguarda gli UM, che in caso di trattamento con codeina sviluppano gravi effetti collaterali a causa della rapida formazione di morfina (62, 63), è importante notare che queste pazienti possono essere più suscettibili alle vampate di calore durante la terapia con tamoxifene.

GENETICA DI *CYP2C9, 2C19, 2B6, 3A4* E *3A5*

Altri importanti isoenzimi CYP della sottofamiglia 2 coinvolti nella bioattivazione del tamoxifene sono CYP2C9, 2C19 e 2B6 (15, 18); anche questi enzimi sono polimorfici. Tra le oltre trenta varianti alleliche del gene *CYP2C9* (citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia C, polipeptide 9) sono stati studiati approfonditamente gli alleli *2 e *3 ed è stato evidenziato che essi sono associati a riduzioni significative, anche se altamente variabili, della "clearance" intrinseca, in dipendenza dal substrato (64). L'allele *3 è maggiormente colpito rispetto al *2, con una riduzione dell'attività enzimatica fino al 90% per alcuni farmaci specifici (65). Entrambi gli alleli sono presenti in circa il 35% dei caucasici, ma sono meno diffusi nelle popolazioni nera e asiatica (42, 66). Circa il 2% e il 24% degli individui nella popolazione caucasica sono, rispettivamente, omozigoti ed eterozigoti per queste varianti (67). Numerosi studi hanno dimostrato il significato clinico della genetica del CYP2C9 in relazione a una associazione con una maggiore incidenza di reazioni avverse ai farmaci. L'esempio più importante è

il warfarin, un anticoagulante, dove numerosi studi sia retrospettivi che prospettici hanno confermato che la genetica del CYP2C9 è clinicamente utile per regolare il dosaggio di warfarin al fine di ridurre la comparsa di gravi eventi di sanguinamento correlati al farmaco (68, 69). La risposta anticoagulante dipende anche dalla genetica della epossido reduttasi della vitamina K (68). Inoltre, il sanguinamento gastrointestinale da farmaci antinfiammatori non steroidei (70) e alcuni degli effetti collaterali, come l'ipoglicemia, causati da sulfonilurea (71) sono stati attribuiti a polimorfismi di CYP2C9.

Per il gene *CYP2C19* (citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia C, polipeptide 19) gli alleli non funzionali noti (*CYP2C19* *2, *3, *4, *5, *6, *7 e *8) non hanno alcuna attività dell'enzima CYP2C19 (PM); l'allele *2 è prevalente nella popolazione caucasica. Questi alleli inattivi sono dovuti a un difetto di "splicing" (*2), a un codone di stop prematuro (*3) o a una alterazione della struttura e/o stabilità di CYP2C19 (72) (http://www.cypalleles.ki.se/). Recentemente, sono stati identificati numerosi nuovi alleli *CYP2C19* (*9 -*25) in individui provenienti da differenti gruppi etnici; tuttavia, non è chiaro se queste mutazioni producano alterazioni significative nell'attività enzimatica *in vivo*. CYP2C19 *2 e *3 sono le varianti più frequenti. In accordo con i risultati di genotipizzazione e fenotipizzazione e in analogia con CYP2D6, si è evidenziato che la distribuzione dei PM mostra ampie differenze interetniche. Negli Europei caucasici la frequenza media degli individui PM è del 3%, mentre frequenze più elevate di PM (fino al 23%) sono state individuate in Asia e nella popolazione dell'Oceania (72, 73). Tuttavia, portatori di varianti eterozigoti sono presenti nel 32% dei caucasici (74). E' stata recentemente individuata una variante del promotore di *CYP2C19* *17 associata ad aumentata attività CYP2C19 *in vivo* (UM) con l'omeprazolo [un inibitore della pompa protonica (75)] e con l'escitalopram, un farmaco antidepressivo, come substrati (76). Sono state segnalate differenze nella frequenza dell'allele *CYP2C19* *17: 18% nella popolazione svedese ed etiope (75), 25% nella popolazione tedesca (77) e 27% in una popolazione polacca (78). Una frequenza più bassa (4%) è stata riportata per i cinesi (75). Alla luce di queste relazioni genotipo/fenotipo, vi è la possibilità che UM CYP2C19 possa giocare un ruolo nel metabolismo del tamoxifene e negli esiti clinici, come abbiamo riportato nel nostro studio di farmacogenetica del tamoxifene applicato al cancro al seno (79).

Per quanto riguarda il *CYP2B6* (citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia B, polipeptide 6), la variante allelica più comune, *6, ha una frequenza compresa tra 15% e 60% nelle diverse popolazioni (80). La genotipizzazione del *CYP2B6* *6 predice un aumento delle concentrazioni plasmatiche di efavirenz e nevirapina e l'aumento della neurotossicità correlata dell'efavirenz nei soggetti con infezione da HIV (81, 82) e i risultati hanno suggerito di ridurre la dose del 35% nei pazienti africani che erano omozigoti per *CYP2B6* *6 (83). Questi risultati sono in accordo con l'attività ridotta dell'isoenzima CYP2B6 *6, che, tuttavia, può essere substrato dipendente. Allo stato attuale non è noto alcun contributo di varianti CYP2B6 alla risposta terapeutica al tamoxifene.

Le più importanti sottofamiglie di isoenzimi CYP coinvolti nel metabolismo umano dei farmaci sono CYP3A4 e 3A5, che partecipano al metabolismo del 40% dei farmaci che sono più frequentemente prescritti (42). Ci sono poche prove per un contributo rilevante dell'espressione genica e funzione enzimatica di *CYP3A4* (citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia A, polipeptide 4), sebbene mutanti difettivi CYP3A4 possono, in casi molto rari, spiegare la sopravvenuta tossicità (84). Al contrario, i polimorfismi sono responsabili di gran parte della variazione di espressione del *CYP3A5* (citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia A, polipeptide 5). La maggiore incidenza della variante inattiva CYP3A5 *3 nei caucasici (85%-95%) in confronto agli afroamericani (30%-50%) causa il livello minore della proteina CYP3A5 visto nei caucasici rispetto agli afroamericani (>30% vs. 50%). Le varianti CYP3A5 *6 e *7 sono prive di qualsiasi attività funzionale e si trovano solo in individui di origine africana. A parte un chiaro effetto sull'immunosoppressore tacrolimus (85), il contributo dell'enzima polimorfo CYP3A5 al metabolismo mediato da CYP3A rimane controverso. È difficile delineare il contributo relativo di CYP3A4 e CYP3A5 perché le loro strutture proteiche, le funzioni e i rispettivi substrati sono molto simili. In effetti, uno di questi enzimi può funzionalmente compensare la mancanza dell'altro. Non è noto se varianti CYP3A4 e/o CYP3A5 contribuiscano alla risposta terapeutica al tamoxifene.

FARMACOGENOMICA DEL TAMOXIFENE

La logica che guida il principio della farmacogenomica del tamoxifene è che le varianti di sequenza di DNA di enzimi che metabolizzano farmaci, che codificano per proteine con funzione enzimatica ridotta o assente, possono essere associate con più basse concentrazioni plasmatiche di metaboliti attivi del tamoxifene, cosa che potrebbe avere un impatto sull'efficacia del trattamento con questo farmaco. Circa 30 anni fa, Jordan et al. caratterizzarono il primo potente metabolita antiestrogenico, il 4-idrossitamoxifene, e riportarono un'affinità 100 volte maggiore per l'ER rispetto al farmaco di origine (86). Questo metabolita è stato più tardi dimostrato essere da 30 a 100 volte più potente del tamoxifene nel sopprimere la proliferazione cellulare estrogeno-dipendente (86-89). Nonostante la sua efficacia come antiestrogenico, il contributo di questo metabolita all'effetto clinico complessivo del tamoxifene è rimasto oscuro, perché le sue concentrazioni plasmatiche sono relativamente basse rispetto a quelle del tamoxifene e altri suoi metaboliti (86). La conoscenza del legame tra metabolismo del tamoxifene e risposta al trattamento si è rapidamente estesa dopo la caratterizzazione dell'endoxifene (16, 22), che, sebbene sia stato identificato alla fine degli anni '80, inizialmente era rimasto oscuro per quanto riguarda la sua attività biologica. Infine, una serie di studi di laboratorio per la caratterizzazione della sua attività farmacologica ha stabilito che l'endoxifene ha una potenza equivalente al 4-idrossitamoxifene riguardo alla

sua affinità di legame per gli ER (16), alla soppressione della proliferazione delle cellule estrogeno-dipendenti del cancro mammario (16, 89, 90) e alla modulazione dell'espressione genica globale mediata dagli estrogeni (91). Una dettagliata analisi *in vitro* ha dimostrato che l'endoxifene è formato principalmente dalla 4-idrossilazione del principale metabolita N-desmetiltamoxifene, con l'enzima CYP2D6 che catalizza questo passaggio chiave (15). A causa del ruolo centrale del CYP2D6 nella formazione di endoxifene, una variazione del genotipo *CYP2D6* e nel corrispondente fenotipo è al centro della farmacogenetica del tamoxifene. Attualmente ciò che è noto in questo campo si basa sui risultati ottenuti a due livelli di indagini cliniche, che riguardano (a) l'associazione tra le concentrazioni dei metaboliti attivi del tamoxifene sia con il genotipo *CYP2D6* che con gli esiti clinici e (b) l'associazione tra genotipo *CYP2D6* e "outcome" clinico. Il secondo approccio ha dimostrato che i pazienti con due alleli funzionali *CYP2D6* beneficiano maggiormente del trattamento con tamoxifene. Ulteriore conoscenza riguardo alla relazione tra concentrazioni plasmatiche di endoxifene *in vivo* e esiti clinici sarà acquisita effettuando nuovi e approfonditi studi su ampi gruppi di pazienti.

EFFETTI DELLE CONCENTRAZIONI DEI METABOLITI DEL TAMOXIFENE

Studi prospettici su grandi gruppi di pazienti con trattamento adiuvante con tamoxifene hanno mostrato ampie variazioni interindividuali nella formazione di metaboliti del tamoxifene e riduzioni sostanziali nelle concentrazioni plasmatiche all'equilibrio di endoxifene durante il trattamento con tamoxifene nelle donne portatrici delle varianti del gene *CYP2D6* (8, 11, 22). Inoltre, prove convincenti hanno dimostrato che gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI), come fluoxetina e paroxetina, noti per essere forti inibitori di CYP2D6, riducono le concentrazioni plasmatiche di endoxifene. In particolare, in pazienti con carcinoma mammario omozigoti per il genotipo *CYP2D6* "wild-type" era osservata una riduzione significativa nelle concentrazioni plasmatiche di endoxifene indotta da SSRI, mentre le concentrazioni di altri metaboliti non erano influenzate dal genotipo/fenotipo *CYP2D6*. Sebbene la relazione tra varianti CYP2D6 e concentrazioni plasmatiche di endoxifene sia stata per prima descritta in pazienti con genotipo *CYP2D6* *4 PM (11), un approccio quantitativo che comprendeva i genotipi PM, IM e UM aveva supportato questa corrispondenza (8); tuttavia, gli intervalli di concentrazione di endoxifene possono sovrapporsi tra i genotipi. Ne consegue che altri fattori possono modificare le concentrazioni plasmatiche di endoxifene.

E' stata riportata una relazione tra varianti CYP2D6 e concentrazioni più elevate di N-desmetiltamoxifene (il precursore dell'endoxifene) a livello di chemioprevenzione. Concentrazioni plasmatiche significativamente più alte di N-desmetiltamoxifene sono state segnalate nei portatori di mutazione dopo 1 anno di terapia con tamoxifene, indicando che la conversione a endoxifene clinicamente attivo poteva essere compromessa (92).

Uno studio più recente ha affrontato il rapporto tra i genotipi *CYP2D6* e *SULT1A1* (famiglia sulfotransferase, citosolica, 1A, fenolo-preferendo, membro 1), compreso l'effetto di numero di copie di *SULT1A1* sulla farmacocinetica del tamoxifene durante trattamento (32). Mentre entrambi i genotipi *CYP2D6* e *SULT1A1* influenzavano la farmacocinetica dei metaboliti del tamoxifene, il numero di copie del gene *SULT1A1* non aveva questo effetto. Nei portatori di varianti genotipiche di *CYP2D6* sono stati osservati rapporti metabolici più bassi con rispetto alla formazione di endoxifene e 4-idrossitamoxifene, ma rapporti più elevati per la formazione di N-desmetiltamoxifene (precursore di endoxifene), un risultato coerente con un effetto gene-dosaggio. Al contrario, pazienti portatori di alleli *CYP2D6* con prevista attività enzimatica elevata hanno mostrato un rapporto metabolico più elevato per entrambi i metaboliti attivi. Rimane da stabilire se tali rapporti metabolici siano di rilevanza clinica.

In maniera simile, uno studio prospettico di una coorte di pazienti coreane con carcinoma mammario precoce o metastatico ha evidenziato un'associazione tra la variante omozigote *CYP2D6* *10 IM e concentrazioni plasmatiche ridotte di 4-idrossitamoxifene e endoxifene (17) e uno studio cinese ha dimostrato che pazienti omozigoti per *CYP2D6* *10 presentavano concentrazioni sieriche più basse di 4-idrossitamoxifene (93).

ESITI CLINICI DELLA TERAPIA CON TAMOXIFENE E PREDITTIVITÀ

Le prime evidenze che collegano le varianti CYP2D6 con la risposta al trattamento sono state ottenute da uno studio prospettico randomizzato di fase III di donne in postmenopausa con carcinoma mammario ER-positivo ("North Central Cancer Treatment Group adjuvant breast cancer trial") effettuato per studiare gli effetti dell'aggiunta dell'androgeno fluoximesterone per 1 anno al protocollo standard di 5 anni con tamoxifene adiuvante. L'indagine farmacogenetica delle pazienti del gruppo che riceveva solo tamoxifene ha dimostrato che dopo un "follow-up" medio di 11,4 anni, la variante allelica *CYP2D6* *4 era un predittore indipendente di rischio aumentato di recidiva e di minore incidenza di vampate di calore (94). Uno studio di "follow-up" ha rilevato che, oltre alla genetica del *CYP2D6*, la fenocopia dovuta alla coprescizione di inibitori del CYP2D6 (SSRI) era un predittore indipendente dell'andamento clinico del cancro della mammella nelle donne in postmenopausa che prendevano il tamoxifene (95). Recentemente, in uno studio retrospettivo non randomizzato in pazienti in postmenopausa con cancro della mammella ER-positivo sottoposte a terapia adiuvante con tamoxifene è stata dimostrata una robusta associazione tra il genotipo *CYP2D6* e il risultato del trattamento (79). Ad un "follow-up" mediano di 71 mesi, i portatori di genotipi PM e IM (portatori degli alleli *CYP2D6* *4, *5, *10 e *41) avevano più recidive neoplastiche, periodi più brevi liberi da recidive e peggiore sopravvivenza rispetto ai portatori degli alleli funzionali (Figura 2). Questa associazione non era

osservata nelle pazienti in postmenopausa ER-positive non trattate con tamoxifene. È interessante notare che anche la variante *CYP2C19* *17 UM aveva un effetto favorevole sugli esiti del trattamento con tamoxifene. Le pazienti con il genotipo *17 omozigote avevano significativamente meno recidive neoplastiche, rimanevano libere da recidive per un tempo più lungo e avevano una migliore sopravvivenza libera da effetti collaterali rispetto alle non portatrici di *17. In generale, questo studio ha suggerito che la genotipizzazione per *CYP2D6* *4, *5, *10 e *41 potrebbe identificare le pazienti che trarrebbero scarso vantaggio dalla terapia adiuvante con tamoxifene. Anche se il fenotipo CYP2D6 EM potrà identificare le pazienti che probabilmente possono beneficiare di una terapia con tamoxifene, che rappresentano circa il 50% del totale, il beneficio terapeutico sarà massimo per gli individui con la combinazione di alleli completamente funzionali di CYP2D6 e il CYP2C19 UM. Questa combinazione si applica a un terzo di tutti i pazienti, indicando che lo studio della farmacogenetica del tamoxifene sarà rilevante per una frazione considerevole di pazienti affette da tumore al seno, che ricevono un trattamento endocrino.

Anche studi clinici effettuati in Corea, Cina e Giappone hanno associato scarsa efficacia clinica alla genetica del *CYP2D6*. Come atteso per le popolazioni con un'alta prevalenza dell'allele IM *CYP2D6* *10, il genotipo *10 omozigote è stato associato a un esito clinico peggiore in un gruppo di pazienti coreane con carcinoma mammario metastatico, mentre l'allele eterozigote *10 e i genotipi omozigoti "wild-type" non lo erano (17). Allo stesso modo, pazienti cinesi che erano omozigoti per l'allele *CYP2D6* *10 hanno mostrato un'associazione sfavorevole con la sopravvivenza libera da malattia (93). Quest'ultimo risultato era suffragato attraverso il confronto con un gruppo di pazienti di controllo non trattate con tamoxifene, in cui non era osservata alcuna associazione tra "outcome" clinico e presenza di variante *CYP2D6* *10. Inoltre, pazienti giapponesi con cancro al seno omozigoti per *CYP2D6* *10 in monoterapia adiuvante con tamoxifene mostravano un'incidenza significativamente più alta di recidiva nei 10 anni di "follow-up" rispetto a pazienti con *CYP2D6* "wild-type" (96). Anche se il numero di pazienti studiate negli studi asiatici che hanno dimostrato la correlazione genotipo-efficacia era sostanzialmente basso, i risultati delle implicazioni cliniche dei genotipi *CYP2D6* predittivi per l'efficacia tamoxifene sono in linea con i risultati degli altri gruppi.

D'altra parte, uno studio effettuato negli Stati Uniti non ha riportato un'associazione significativa tra genetica del CYP2D6 e "outcome" clinico con utilizzo di tamoxifene (97) e risultati contraddittori per questa associazione sono stati riportati in uno studio effettuato in Svezia, che ha evidenziato un'associazione tra variante CYP2D6 *4 e un migliore esito clinico in pazienti trattate con tamoxifene (98). Un ampio studio ha mostrato una migliore sopravvivenza libera da malattia nei portatori di *CYP2D6* *4 rispetto ai pazienti omozigoti o eterozigoti per l'allele funzionale *CYP2D6* (99).

La questione del ruolo del CYP2D6 nella terapia con tamoxifene per il carcinoma mammario è stata affrontata anche nel contesto della prevenzione del tumore al seno. Ad esempio, i dati dello Studio Italiano per il Tamoxifene suggeriscono che le donne con un genotipo *CYP2D6* *4/*4 probabilmente beneficeranno meno del tamoxifene come agente chemiopreventivo. Questo risultato supporta l'idea che il CYP2D6 giochi un ruolo importante nella attivazione metabolica e nell'efficacia del tamoxifene (100). Inoltre, l'ipotesi *a priori* che le vampate di calore possano essere un predittore indipendente dell'efficacia del tamoxifene è stata esaminata nello studio randomizzato "Women's Healthy Eating and

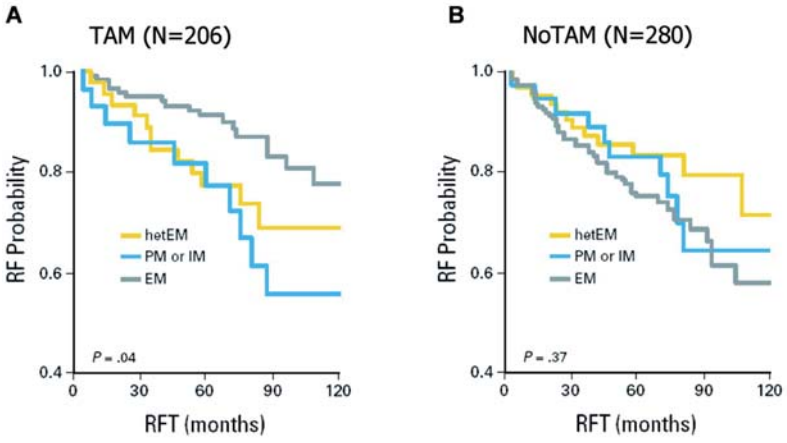


Figura 2
Analisi di Kaplan–Meier del tempo libero da recidiva (RTF) in pazienti con cancro della mammella in base ai fenotipi "metabolizer" stimati dal genotipo di CYP2D6. (A) Pazienti trattati con tamoxifene (TAM). I pazienti "extensive metabolizer" (EM) hanno probabilità maggiori di sviluppare più tardivamente una recidiva rispetto ai pazienti con fenotipo a metabolismo intermedio (IM) o ridotto (PM): (B) Pazienti non trattati con aggiunta di tamoxifene. Non si evidenziano differenze significative tra i differenti fenotipi CYP2D6 nello sviluppare nel tempo una recidiva [Schroth et al. (79)].
hetEM; EM eterozigoti.

Living" (101). Delle 864 pazienti trattate con tamoxifene, 674 (78%) riportavano vampate di calore e il 12,9% di queste pazienti sperimentavano recidiva del cancro al seno dopo 7,3 anni di "follow-up", mentre il 21% delle pazienti che non mostravano vampate di calore mostravano recidive del cancro durante questo periodo. Poiché le vampate di calore erano un fattore predittivo più importante dell'andamento del cancro al seno rispetto all'età, allo stato dei recettori ormonali o allo stadio del tumore alla diagnosi, gli Autori hanno suggerito un'associazione tra gli effetti collaterali, il metabolismo del tamoxifene, e l'efficacia. Infine, un piccolo studio con pazienti con carcinoma mammario familiare che erano portatrici di mutazioni dei geni *BRCA1* ("breast cancer" 1, "early onset") o *BRCA2* ("breast cancer" 2, "early onset") e trattate con tamoxifene ha suggerito una relazione tra lo stato CYP2D6 PM e una minor sopravvivenza nel cancro della mammella familiare (102); tuttavia, a causa del piccolo numero di pazienti così come l'inclusione di pazienti sia ER-positive che ER-negative in questa indagine, sarà necessario che ulteriori studi forniscano un chiarimento per distinguere un effetto farmacogenetico da un effetto prognostico sfavorevole nei portatori di queste mutazioni del gene *BRCA*.

Data l'attuale prassi di trattamento con deprivazione estrogenica a lungo termine nelle pazienti in postmenopausa con cancro alla mammella ER-positivo, con la disponibilità di IA come valida opzione alternativa, la questione dell'impatto della variabilità farmacogenetica sulla scelta ottimale per la terapia endocrina adiuvante è stata affrontata con una analisi di modello (103). Il modello di Markov è stato creato per valutare se la strategia di trattamento ottimale per le pazienti con il gene *CYP2D6* "wild-type" differisca da quella per le portatrici della mutazione *CYP2D6* * 4. Lo studio ha utilizzato pazienti dallo studio BIG1-98, le informazioni provenienti da questo studio sul rischio di ricaduta e i dati di Goetz et al. (94) del genotipo corrispondente. Partendo dal presupposto che il metabolismo degli IA è indipendente dal CYP2D6, il modello suggerisce che il beneficio a 5 anni da terapia adiuvante con tamoxifene può superare anche quello di un trattamento diretto con IA in pazienti CYP2D6 EM in postmenopausa.

CONCLUSIONE: L'IMPORTANZA CLINICA DI CYP2D6 NEL CARCINOMA DELLA MAMMELLA

Importanti prove cliniche, meccanicistiche e farmacologiche, nonché i dati forniti dai modelli, ora indicano che l'efficacia del tamoxifene e il suo impatto sull'"outcome" dipendono dal metabolismo del CYP2D6 controllato dai polimorfismi dell'enzima CYP2D6 e dalle interazioni farmacologiche. Dati provenienti da studi internazionali hanno chiaramente dimostrato che le concentrazioni plasmatiche di metaboliti attivi del tamoxifene sono legate all'attività metabolica del CYP2D6 determinata geneticamente, all'effetto di forti inibitori del CYP2D6 e agli esiti clinici. I pochi dati contraddittori possono essere spiegati dalla variabilità negli studi dei criteri di inclusione dei pazienti, delle dosi di tamoxifene, della durata del trattamento, dei regimi addizionali di chemioterapia o dalla mancanza di test riproducibili per gli ER. È importante sottolineare che la maggior parte degli Autori concorda sul fatto che le varianti del gene *CYP2D6*, come pure l'inibizione del CYP2D6 da parte di farmaci cosomministrati come gli SSRI, possono diminuire il metabolismo del tamoxifene e quindi influire negativamente sulla sua efficacia e sui risultati del trattamento.

Ci sono una serie di potenziali conseguenze cliniche da questi dati emergenti su CYP2D6 e esiti del trattamento con tamoxifene. In primo luogo, potenti SSRI come la paroxetina o la fluoxetina non dovrebbero essere usati per alleviare le vampate di calore nelle pazienti con tumore al seno che ricevono tamoxifene. Sebbene gli SSRI siano una delle poche terapie basate sull'evidenza per i sintomi vasomotori della menopausa (104), dati convincenti ora indicano che questi farmaci possono compromettere l'efficacia del tamoxifene, mediante un effetto fenocopia dovuto all'interferenza con il metabolismo del tamoxifene dipendente da CYP2D6. Ancora, sono state osservate differenze nelle concentrazioni plasmatiche dei metaboliti del tamoxifene a seconda dell'effetto inibitore di CYP2D6 (11, 105). Se il trattamento delle vampate di calore è indicato, dovrebbe essere usato un SSRI come il citalopram o l'escitalopram o un inibitore selettivo del "reuptake" della noradrenalina come la venlafaxina, perché questi composti non hanno mostrato alcuna apprezzabile inibizione del CYP2D6.

In secondo luogo, la relazione tra genotipo CYP2D6, fenotipo ed efficacia del trattamento suggerisce l'utilità della genotipizzazione del CYP2D6 prima di una decisione sulla terapia endocrina adiuvante. Il test per la genotipizzazione di *CYP2D6* dovrà essere sostanzialmente robusto, standardizzato e sottoposto a controllo di qualità al fine di permettere l'identificazione delle varianti genetiche che possono influenzare il metabolismo del tamoxifene. In accordo con i dati di Goetz et al. (94) e Schroth et al. (79), tali analisi dovrebbero includere test per gli alleli comuni PM (*CYP2D6* *3, *4 e *5) e per gli alleli IM, secondo l'origine etnica di un individuo. Da segnalare che *41 è l'allele IM più frequente negli europei, *17 è il principale allele IM negli africani e *10 domina negli asiatici (ma anche *9 dovrebbe essere considerato) (59). Altra area di interesse in relazione alle applicazioni cliniche è il dosaggio delle concentrazioni plasmatiche di endoxifene come un surrogato del fenotipo CYP2D6.

Date le opzioni di trattamenti alternativi (tamoxifene vs. IA) e considerando l'evidenza scientifica e clinica disponibile, è auspicabile un approccio individualizzato per il trattamento endocrino di pazienti in postmenopausa con tumore al seno. Si può ipotizzare che il tamoxifene da solo sia sufficiente per i CYP2D6 EM e i portatori EM, mentre per le pazienti in postmenopausa con varianti negli alleli *CYP2D6* può funzionare meglio una terapia con IA. Sebbene questo approccio può essere considerato facile da applicare per le pazienti PM, il miglior trattamento può essere meno evidente per le pazienti IM. IM è un fenotipo comune in molti gruppi etnici, tra cui caucasici, afro-americani e asiatici; quindi,

sono necessari dati che colleghino i genotipi IM con la soglia terapeutica e l'efficacia per affrontare adeguatamente il problema clinicamente importante dell'aggiustamento della dose di tamoxifene. Allo stesso modo, richiede ulteriori indagini l'eventuale impatto dei fenotipi UM sulle concentrazioni dei metaboliti, l'efficacia del trattamento e la tossicità, che hanno implicazioni potenziali per il dosaggio. Raccomandazioni formali per l'integrazione della genotipizzazione del *CYP2D6* nelle decisioni di trattamento devono comunque attendere la validazione di questi genotipi in studi retrospettivi più ampi, come proposto dall'"International Tamoxifene Pharmacogenetics Consortium" (http://www.pharmgkb.org/do/serve?objId=63&objCls=Project), o con studi clinici prospettici. Finora, nessuno studio ha affrontato la questione se le differenze geneticamente indotte nelle concentrazioni di 4-idrossitamoxifene e endoxifene sono associate con la risposta al trattamento o alla progressione della malattia e con gli effetti collaterali come le vampate di calore; pertanto, il monitoraggio terapeutico dei metaboliti attivi del farmaco come utile surrogato non è attualmente disponibile nel caso del tamoxifene. Per decidere se la genotipizzazione *CYP2D6* diventerà uno strumento diagnostico appropriato per la selezione della terapia endocrina adiuvante nelle pazienti in postmenopausa con cancro alla mammella ER-positivo si dovrà attendere la validazione in studi clinici prospettici randomizzati tamoxifene vs. trattamento IA in accordo con i genotipi *CYP2D6*. Tali studi clinici prospettici sono attualmente in corso di pianificazione.

Altre questioni ancora aperte potrebbero riguardare la rilevanza clinica di altri enzimi che metabolizzano farmaci in relazione a presenza di mutazioni o variazioni di origine etnica in relazione alla prevalenza dei loro genotipi influenzanti gli esiti del trattamento. Infine, c'è la possibilità che i geni correlati alla farmacocinetica solo in parte spieghino la farmacogenomica del tamoxifene. Sarà quindi importante considerare anche il contributo dei geni correlati alla farmacodinamica nel valutare la resistenza agli antiestrogeni come una caratteristica della cellula tumorale e per individuare il ruolo dei geni associati alla proliferazione estrogeno-mediata delle cellule. In questo contesto, sarà interessante capire se i geni che codificano per gli ER, i loro coattivatori o corepressori (106), così come i geni di resistenza agli antiestrogeni (107) e le loro varianti, siano coinvolti nella risposta al tamoxifene. Tali risultati potrebbero aumentare il potenziale globale della farmacogenomica del tamoxifene.

A tal fine, è importante considerare che la maggior parte delle terapie antineoplastiche di uso corrente sono state stabilite empiricamente. I recenti progressi nella comprensione della farmacologia e della farmacogenetica del tamoxifene promettono, tuttavia, un miglioramento dei trattamenti mediante l'introduzione di una medicina personalizzata. Poichè l'approccio basato sul genoma utilizza la genotipizzazione del *CYP2D6* per predire il fenotipo metabolizzatore di un paziente, devono anche essere sufficientemente discusse le questioni etiche. Alla luce di alternative accettabili, una scelta informata circa il trattamento endocrino adiuvante deve essere di interesse primario, evitando soprattutto una terapia che può non essere efficace. Sarà quindi importante rendere pazienti e loro curanti consapevoli di queste problematiche e avviare una discussione con le autorità regolatorie.

BIBLIOGRAFIA

1. 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 randomised trials. Lancet 2005;365:1687-717.
2. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, et al. Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. Ann Oncol 2007;18:1133-44.
3. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, et al. Tamoxifen for the prevention of breast cancer: current status of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study. J Natl Cancer Inst 2005;97:1652-62.
4. Fentiman IS, Fourquet A, Hortobagyi GN. Male breast cancer. Lancet 2006;367:595-604.
5. 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;23:1897-901.
6. Coller JK, Krebsfaenger N, Klein K, et al. Large interindividual variability in the in vitro formation of tamoxifen metabolites related to the development of genotoxicity. Br J Clin Pharmacol 2004;57:105-11.
7. Crewe HK, Notley LM, Wunsch RM, et al. Metabolism of tamoxifen by recombinant human cytochrome P450 enzymes: formation of the 4-hydroxy, 4'-hydroxy and N-desmethyl metabolites and isomerization of trans-4-hydroxytamoxifen. Drug Metab Dispos 2002;30:869-74.
8. Borges S, Desta Z, Li 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.
9. Dowsett M, Cuzick J, Howell A, et al. Pharmacokinetics of anastrozole and tamoxifen alone, and in combination, during adjuvant endocrine therapy for early breast cancer in postmenopausal women: a sub-protocol of the 'ArimidexTM and Tamoxifen Alone or in Combination' (ATAC) trial. Br J Cancer 2001;85:317-24.
10. Hutson PR, Love RR, Havighurst TC, et al. Effect of exemestane on tamoxifen pharmacokinetics in postmenopausal women treated for breast cancer. Clin Cancer Res 2005;11:8722-7.
11. Jin Y, Desta Z, Stearns V, et al. CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism during adjuvant breast cancer treatment. J Natl Cancer Inst 2005;97:30-9.
12. Lee KH, Ward BA, Desta Z, et al. Quantification of tamoxifen and three metabolites in plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: application to a clinical trial. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2003;791:245-53.
13. MacCallum J, Cummings J, Dixon JM, et al. Concentrations of tamoxifen and its major metabolites in hormone responsive and resistant breast tumours. Br J Cancer 2000;82:1629-35.
14. Sheth HR, Lord G, Tkaczuk K, et al. Aging may be associated with concentrations of tamoxifen and its metabolites in breast cancer patients. J Womens Health 2003;12:799-808.

15. 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. J Pharmacol Exp Ther 2004;310:1062-75.
16. Johnson MD, Zuo H, Lee KH, et al. Pharmacological characterization of 4-hydroxy-N-desmethyl tamoxifen, a novel active metabolite of tamoxifen. Breast Cancer Res Treat 2004;85:151-9.
17. Lim HS, Ju LH, Seok LK, et al. Clinical implications of CYP2D6 genotypes predictive of tamoxifen pharmacokinetics in metastatic breast cancer. J Clin Oncol 2007;25:3837-45.
18. Coller JK, Krebsfaenger N, Klein K, et al. The influence of CYP2B6, CYP2C9 and CYP2D6 genotypes on the formation of the potent antioestrogen Z-4-hydroxy-tamoxifen in human liver. Br J Clin Pharmacol 2002;54:157-67.
19. Crewe HK, Ellis SW, Lennard MS, et al. Variable contribution of cytochromes P4502D6, 2C9 and 3A4 to the 4-hydroxylation of tamoxifen by human liver microsomes. Biochem Pharmacol 1997;53:171-8.
20. Dehal SS, Kupfer D. CYP2D6 catalyzes tamoxifen 4-hydroxylation in human liver. Cancer Res 1997;57:3402-6.
21. Mani C, Gelboin HV, Park SS, et al. Metabolism of the antimammary cancer antiestrogenic agent tamoxifen. I. Cytochrome P-450-catalyzed N-demethylation and 4-hydroxylation. Drug Metab Dispos 1993;21:645-56.
22. Stearns V, Johnson MD, Rae JM, et al. Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. J Natl Cancer Inst 2003;95:1758-64.
23. Kim SY, Suzuki N, Santosh Laxmi YR, et al. Alpha-hydroxylation of tamoxifen and toremifene by human and rat cytochrome P450 3A subfamily enzymes. Chem Res Toxicol 2003;16:1138-44.
24. Notley LM, Crewe KH, Taylor PJ, et al. Characterization of the human cytochrome P450 forms involved in metabolism of tamoxifen to its α-hydroxy and α, 4-dihydroxy derivatives. Chem Res Toxicol 2005;18:1611-8.
25. Katzenellenbogen JA, Carlson KE, Katzenellenbogen BS. Facile geometric isomerization of phenolic non-steroidal estrogens and antiestrogens: limitations to the interpretation of experiments characterizing the activity of individual isomers. J Steroid Biochem 1985;22:589-96.
26. Osborne CK, Wiebe VJ, McGuire WL, et al. Tamoxifen and the isomers of 4-hydroxytamoxifen in tamoxifen-resistant tumors from breast cancer patients. J Clin Oncol 1992;10:304-10.
27. Dehal SS, Brodie AMH, Kupfer D. The aromatase inactivator 4-hydroxyandrostenedione (4-OH-A) inhibits tamoxifen metabolism by rat hepatic cytochrome P-450 3A: potential for drug-drug interaction of tamoxifen and 4-OH-A in combined anti-breast cancer therapy. Drug Metab Dispos 1999;27:389-94.
28. Dehal SS, Kupfer D. Evidence that the catechol 3,4-dihydroxytamoxifen is a proximate intermediate to the reactive species binding covalently to proteins. Cancer Res 1995;56:1283-90.
29. Liu X, Pisha E, Tonetti DA, et al. Antiestrogenic and DNA damaging effects induced by tamoxifen and toremifene metabolites. Chem Res Toxicol 2003;16:832-7.
30. Hodgson E, Rose RL, Cao Y, et al. Flavin-containing monooxygenase isoform specificity for the N-oxidation of tamoxifen determined by product measurement and NADPH oxidation. J Biochem Mol Toxicol 2000;14:118-20.
31. Parte P, Kupfer D. Oxidation of tamoxifen by human flavin-containing monooxygenase (FMO) 1 and FMO3 to tamoxifen-N-oxide and its novel reduction back to tamoxifen by human cytochromes P450 and hemoglobin. Drug Metab Dispos 2005;33:1446-52.
32. Gjerde J, Hauglid M, Breilid H, et al. Effects of CYP2D6 and SULT1A1 genotypes including SULT1A1 gene copy number on tamoxifen metabolism. Ann Oncol 2008;19:56-61.
33. Nishiyama T, Ogura K, Nakano H, et al. Reverse geometrical selectivity in glucuronidation and sulfation of cis- and trans-4-hydroxytamoxifens by human liver UDP-glucuronosyltransferases and sulfotransferases. Biochem Pharmacol 2002;63:1817-30.
34. Ogura K, Ishikawa Y, Kaku T, et al. Quaternary ammonium-linked glucuronidation of trans-4-hydroxytamoxifen, an active metabolite of tamoxifen, by human liver microsomes and UDP-glucuronosyltransferase 1A4. Biochem Pharmacol 2006;71:1358-69.
35. Sun D, Sharma AK, Dellinger RW, et al. Glucuronidation of active tamoxifen metabolites by the human UDP glucuronosyltransferases. Drug Metab Dispos 2007;35:2006-14.
36. Kaku T, Ogura K, Nishiyama T, et al. Quaternary ammonium-linked glucuronidation of tamoxifen by human liver microsomes and UDP-glucuronosyltransferase 1A4. Biochem Pharmacol 2004;67:2093-102.
37. Sun D, Chen G, Dellinger RW, et al. Characterization of tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen glucuronidation by human UGT1A4 variants. Breast Cancer Res 2006;8:R50.
38. Falany JL, Pilloff DE, Leyh TS, et al. Sulfation of raloxifene and 4-hydroxytamoxifen by human cytosolic sulfotransferases. Drug Metab Dispos 2006;34:361-8.
39. Apak TI, Duffel MW. Interactions of the stereoisomers of alpha-hydroxytamoxifen with human hydroxysteroid sulfotransferase SULT2A1 and rat hydroxysteroid sulfotransferase STa. Drug Metab Dispos 2004;32:1501-8.
40. Kim SY, Laxmi YR, Suzuki N, et al. Formation of tamoxifen-DNA adducts via O-sulfonation, not O-acetylation, of alpha-hydroxytamoxifen in rat and human livers. Drug Metab Dispos 2005;33:1673-8.
41. Osborne MR, Hewer A, Phillips DH. Resolution of alpha-hydroxytamoxifen; R-isomer forms more DNA adducts in rat liver cells. Chem Res Toxicol 2001;14:888-93.
42. Zanger UM, Turpeinen M, Klein K, et al. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. Anal Bioanal Chem 2008;392:1093-108.
43. Zanger UM. The CYP2D subfamily. Ioannides C, ed. Cytochromes P450. Role in the metabolism and toxicity of drugs and other xenobiotics. Cambridge, UK: RSC Publishing, 2008.
44. Eichelbaum M, Spannbrucker N, Dengler HJ. Proceedings: N-oxidation of sparteine in man and its interindividual differences. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1975;287(suppl):R94.
45. Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, et al. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. Lancet 1977;2:584-6.
46. Griese EU, Zanger UM, Brudermanns U, et al. Assessment of the predictive power of genotypes for the in-vivo catalytic function of CYP2D6 in a German population. Pharmacogenetics 1998;8:15-26.
47. Raimundo S, Toscano C, Klein K, et al. A novel intronic mutation, 2988G>A, with high predictivity for impaired function of cytochrome P450 2D6 in white subjects. Clin Pharmacol Ther 2004;76:128-38.
48. Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, et al. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. Am J Hum Genet 1997;60:284-95.
49. Marez D, Legrand M, Sabbagh N, et al. Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. Pharmacogenetics

1997;7:193-202.
50. Raimundo S, Fischer J, Eichelbaum M, et al. Elucidation of the genetic basis of the common 'intermediate metabolizer' phenotype for drug oxidation by CYP2D6. Pharmacogenetics 2000;10:577-81.
51. Toscano C, Klein K, Blievernicht J, et al. Impaired expression of CYP2D6 in intermediate metabolizers carrying the *41 allele caused by the intronic SNP 2988G>A: evidence for modulation of splicing events. Pharmacogenet Genomics 2006;16:755-66.
52. Zanger UM, Fischer J, Raimundo S, et al. Comprehensive analysis of the genetic factors determining expression and function of hepatic CYP2D6. Pharmacogenetics 2001;11:573-85.
53. Bertilsson L, Dahl ML, Sjöqvist F, et al. Molecular basis for rational megaprescribing in ultrarapid hydroxylators of debrisoquine. Lancet 1993;341:63.
54. Dalen P, Dahl ML, Bernal Ruiz ML, et al. 10-Hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3, and 13 functional CYP2D6 genes. Clin Pharmacol Ther 1998;63:444-52.
55. Lovlie R, Daly AK, Matre GE, et al. Polymorphisms in CYP2D6 duplication-negative individuals with the ultrarapid metabolizer phenotype: a role for the CYP2D6*35 allele in ultrarapid metabolism? Pharmacogenetics 2001;11:45-55.
56. Algeciras-Schimnich A, O'Kane DJ, Snozek CL. Pharmacogenomics of tamoxifen and irinotecan therapies. Clin Lab Med 2008;28:553-67.
57. Aklillu E, Persson I, Bertilsson L, et al. Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an Ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional CYP2D6 alleles. J Pharmacol Exp Ther 1996;278:441-6.
58. McLellan RA, Oscarson M, Seidegard J, et al. Frequent occurrence of CYP2D6 gene duplication in Saudi Arabians. Pharmacogenetics 1997;7:187-91.
59. Sistonen J, Sajantila A, Lao O, et al. CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. Pharmacogenet Genomics 2007;17:93-101.
60. Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. Pharmacogenomics J 2005;5:6-13.
61. Bradford LD. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. Pharmacogenomics 2002;3:229-43.
62. Gasche Y, Daali Y, Fathi M, et al. Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism. N Engl J Med 2004;351:2827-31.
63. Koren G, Cairns J, Chitayat D, et al. Pharmacogenetics of morphine poisoning in a breastfed neonate of a codeine-prescribed mother. Lancet 2006;368:704.
64. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. Pharmacogenetics 2002;12:251-63.
65. King BP, Khan TI, Aithal GP, et al. Upstream and coding region CYP2C9 polymorphisms: correlation with warfarin dose and metabolism. Pharmacogenetics 2004;14:813-22.
66. Garcia-Martin E, Martinez C, Ladero JM, et al. Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy individuals. Mol Diagn Ther 2006;10:29-40.
67. Xie HG, Kim RB, Wood AJ, et al. Molecular basis of ethnic differences in drug disposition and response. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2001;41:815-50.
68. Flockhart DA, O'Kane D, Williams MS, et al. Pharmacogenetic testing of CYP2C9 and VKORC1 alleles for warfarin. Genet Med 2008;10:139-50.
69. Limdi NA, Veenstra DL. Warfarin pharmacogenetics. Pharmacotherapy 2008;28:1084-97.
70. Pilotto A, Seripa D, Franceschi M, et al. Genetic susceptibility to nonsteroidal anti-inflammatory drug-related gastroduodenal bleeding: role of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. Gastroenterology 2007;133:465-71.
71. Holstein A, Plaschke A, Ptak M, et al. Association between CYP2C9 slow metabolizer genotypes and severe hypoglycaemia on medication with sulphonylurea hypoglycaemic agents. Br J Clin Pharmacol 2005;60:103-6.
72. Desta Z, Zhao X, Shin JG, et al. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. Clin Pharmacokinet 2002;41:913-58.
73. Xie HG, Stein CM, Kim RB, et al. Allelic, genotypic and phenotypic distributions of S-mephenytoin 4'-hydroxylase (CYP2C19) in healthy Caucasian populations of European descent throughout the world. Pharmacogenetics 1999;9:539-49.
74. Wedlund PJ. The CYP2C19 enzyme polymorphism. Pharmacology 2000;61:174-83.
75. Sim SC, Risinger C, Dahl ML, et al. A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. Clin Pharmacol Ther 2006;79:103-13.
76. Rudberg I, Mohebi B, Hermann M, et al. Impact of the ultrarapid CYP2C19*17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. Clin Pharmacol Ther 2008;83:322-7.
77. Justenhoven C, Hamann U, Pierl CB, et al. CYP2C19*17 is associated with decreased breast cancer risk. Breast Cancer Res Treat 2008;115:391-6.
78. Kurzawski M, Gawronska-Szklarz B, Wrzesniewska J, et al. Effect of CYP2C19*17 gene variant on Helicobacter pylori eradication in peptic ulcer patients. Eur J Clin Pharmacol 2006;62:877-80.
79. Schroth W, Antoniadou L, Fritz P, et al. Breast cancer treatment outcome with adjuvant tamoxifen relative to patient CYP2D6 and CYP2C19 genotypes. J Clin Oncol 2007;25:5187-93.
80. Zanger UM, Klein K, Saussele T, et al. Polymorphic CYP2B6: molecular mechanisms and emerging clinical significance. Pharmacogenomics 2007;8:743-59.
81. Rotger M, Colombo S, Furrer H, et al. Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. Pharmacogenet Genomics 2005;15:1-5.
82. Rotger M, Tegude H, Colombo S, et al. Predictive value of known and novel alleles of CYP2B6 for efavirenz plasma concentrations in HIV-infected individuals. Clin Pharmacol Ther 2007;81:557-66.
83. Nyakutira C, Röshammar D, Chigutsa E, et al. High prevalence of the CYP2B6 516G T(*6) variant and effect on the population pharmacokinetics of efavirenz in HIV/AIDS outpatients in Zimbabwe. Eur J Clin Pharmacol 2008;64:357-65.
84. Westlind-Johnsson A, Hermann R, Huennemeyer A, et al. Identification and characterization of CYP3A4*20, a novel rare CYP3A4 allele without functional activity. Clin Pharmacol Ther 2006;79:339-49.
85. Anglicheau D, Legendre C, Beaune P, et al. Cytochrome P450 3A polymorphisms and immunosuppressive drugs: an update. Pharmacogenomics 2007;8:835-49.
86. Jordan VC. Metabolites of tamoxifen in animals and man: identification, pharmacology, and significance. Breast

Cancer Res Treat 1982;2:123-38.
87. Coezy E, Borgna JL, Rochefort H. Tamoxifen and metabolites in MCF7 cells: correlation between binding to estrogen receptor and inhibition of cell growth. Cancer Res 1982;42:317-23.
88. Robertson DW, Katzenellenbogen JA, Long DJ, et al. Tamoxifen antiestrogens. A comparison of the activity, pharmacokinetics, and metabolic activation of the cis and trans isomers of tamoxifen. J Steroid Biochem 1982;16:1-13.
89. Buck MB, Coller JK, Mürdter TE, et al. TGFβ2 and TβRII are valid molecular biomarkers for the antiproliferative effects of tamoxifen and tamoxifen metabolites in breast cancer cells. Breast Cancer Res Treat 2008;107:15-24.
90. Lim YC, Desta Z, Flockhart DA, et al. Endoxifen (4-hydroxy-N-desmethyl-tamoxifen) has anti-estrogenic effects in breast cancer cells with potency similar to 4-hydroxy-tamoxifen. Cancer Chemother Pharmacol 2005;55:471-8.
91. Lim YC, Li L, Desta Z, et al. Endoxifen, a secondary metabolite of tamoxifen, and 4-OH-tamoxifen induce similar changes in global gene expression patterns in MCF-7 breast cancer cells. J Pharmacol Exp Ther 2006;318:503-12.
92. Decensi A, Gandini S, Serrano D, et al. Randomized dose-ranging trial of tamoxifen at low doses in hormone replacement therapy users. J Clin Oncol 2007;25:4201-9.
93. Xu Y, Sun Y, Yao L, et al. Association between CYP2D6 *10 genotype and survival of breast cancer patients receiving tamoxifen treatment. Ann Oncol 2008;19:1423-9.
94. Goetz MP, Rae JM, Suman VJ, et al. Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. J Clin Oncol 2005;23:9312-8.
95. Goetz MP, Kamal A, Ames MM. Tamoxifen pharmacogenomics: the role of CYP2D6 as a predictor of drug response. Clin Pharmacol Ther 2008;83:160-6.
96. Kiyotani K, Mushiroda T, Sasa M, et al. Impact of CYP2D6*10 on recurrence-free survival in breast cancer patients receiving adjuvant tamoxifen therapy. Cancer Sci 2008;99:995-9.
97. Nowell SA, Ahn J, Rae JM, et al. Association of genetic variation in tamoxifen-metabolizing enzymes with overall survival and recurrence of disease in breast cancer patients. Breast Cancer Res Treat 2005;91:249-58.
98. Wegman P, Vainikka L, Stal O, et al. Genotype of metabolic enzymes and the benefit of tamoxifen in postmenopausal breast cancer patients. Breast Cancer Res 2005;7:R284-90.
99. Wegman P, Elingarami S, Carstensen J, et al. Genetic variants of CYP3A5, CYP2D6, SULT1A1, UGT2B15 and tamoxifen response in postmenopausal patients with breast cancer. Breast Cancer Res 2007;9:R7.
100. Bonanni B, Macis D, Maisonneuve P, et al. 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.
101. Mortimer JE, Flatt SW, Parker BA, et al. Tamoxifen, hot flashes and recurrence in breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2008;108:421-6.
102. Newman WG, Hadfield KD, Latif A, et al. Impaired tamoxifen metabolism reduces survival in familial breast cancer patients. Clin Cancer Res 2008;14:5913-8.
103. Punglia RS, Burstein HJ, Winer EP, et al. Pharmacogenomic variation of CYP2D6 and the choice of optimal adjuvant endocrine therapy for postmenopausal breast cancer: a modeling analysis. J Natl Cancer Inst 2008;100:642-8.
104. Carlson RW, Hudis CA, Pritchard KI. Adjuvant endocrine therapy in hormone receptor-positive postmenopausal breast cancer: evolution of NCCN, ASCO, and St Gallen recommendations. J Natl Compr Canc Netw 2006;4:971-9.
105. Lien EA, Solheim E, Kvinnsland S, et al. Identification of 4-hydroxy-N-desmethyltamoxifen as a metabolite of tamoxifen in human bile. Cancer Res 1988;48:2304-8.
106. Jordan VC, O'Malley BW. Selective estrogen-receptor modulators and antihormonal resistance in breast cancer. J Clin Oncol 2007;25:5815-24.
107. van Agthoven T, Sieuwerts AM, Meijer-van Gelder ME, et al. Relevance of breast cancer antiestrogen resistance genes in human breast cancer progression and tamoxifen resistance. J Clin Oncol 2009;27:542-9.
108. Langan-Fahey SM, Tormey DC, Jordan VC. Tamoxifen metabolites in patients on long-term adjuvant therapy for breast cancer. Eur J Cancer 1990;26:883-8.
109. Wakeling AE, Slater SR. Estrogen-receptor binding and biologic activity of tamoxifen and its metabolites. Cancer Treat Rep 1980;64:741-4.
110. Lazarus P, Blevins-Primeau AS, Zheng Y, et al. Potential role of UGT pharmacogenetics in cancer treatment and prevention: focus on tamoxifen. Ann N Y Acad Sci 2009;1155:99-111.