تأثیر پلی‌مورفیسم ژن CYP2D6*4 در ابتلا به سرطان پستان

اعظم بروک [*]
فاطمه همایی [**]
جلیل توکل افشاری [***]
راشین گنجعلی [****]
منور افضل آقایی [*****]

[*] کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، پژوهشکده بوعلی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی

[**] فوق تخصص انکولوژی ، استادیار دانشگاه علوم پزشکی مشهد، بیمارستان قائم(عج) و امید، مرکز تحقیقات سرطان، بخش رادیوتراپی و انکولوژی

[***] دکترای ایمونولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی مشهد، پژوهشکده بوعلی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی

[****] کارشناس ارشد بیوتکنولوژی ، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، پژوهشکده بوعلی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی

[*****] متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تاریخ وصول: ۱۳۸۹/۶/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۸/۱۵

مؤلف مسئول: جلیل توکل افشاری
پست الکترونیک:Tavakolaj@Mums.ac.ir

چکیده:

مقدمه و هدف: سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در زنان است. پلی‌مورفیسم ژن‌های کد کنندهٔ متابولیزه کننده ترکیبات گزنوبیوتیک و دارویی همانند CYP2D6 عوامل بالقوه‌ای هستند که ممکن است در افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان مؤثر باشند. ارتباط بین سرطان پستان با پلی‌مورفیسم ژن(1846G to A) CYP2D6*4 به طور کامل شناخته نشده است، لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط این پلی‌مورفیسم با سرطان پستان بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد- شاهدی در سال ۱۳۸۸ در دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. در این مطالعه پلی‌مورفیسم ژن CYP2D6*4 در ۱۰۰ خانم مبتلا به سرطان پستان و ۱۰۰ خانم سالم با روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون های آماری مجذور کای و تست دقیق فیشر تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در نتایج حاصل از بررسی این پلی‌مورفیسم در گروه‌های مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری بین افراد مبتلا به سرطان پستان و پلی‌مورفیسم ژن CYP2D6*4 مشاهده نگردید($p>۰/۰۵$).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که موتاسیون ژن CYP2D6 *4 نقشی در ابتلا به سرطان پستان ندارد.

واژه‌های کلیدی:سرطان پستان، پلی مورفیسم، موتاسیون

مقدمه

سرطان پستان و افزایش روزافزون آن یک مشکل بهداشتی عمده در سراسر دنیا می‌باشد. شیوع سرطان پستان در ایران ۱۷/۴۴ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر گزارش شده است. در ایران سرطان پستان از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در زنان می‌باشد. این بیماری شایع‌ترین نوع سرطان در میان زنان آمریکا و اروپا می‌باشد(۳-۱). در چهار دهه اخیر میزان بروز سرطان پستان در ایران کمتر از دیگر نقاط آسیا بوده در حالی که در طی دهه اخیر شیوع این سرطان در زنان ایرانی رشد بالایی داشته است که نگران کننده می‌باشد. علاوه بر آن در زنان ایرانی پیک سن ابتلا به سرطان پستان حداقل یک دهه جوان‌تر از سن ابتلا در زنان در کشورهای پیشرفته می‌باشد(۱).

CYP2D6 از آنزیم‌های زیر خانواده سیتوکروم P450 و یکی از مهم‌ترین عوامل در متابولیسم حدود ۲۵ــ۲۰ درصد داروها می‌باشد. پلی‌مورفیسم این ژن باعث متابولیسم ضعیف، متوسط، طبیعی و یا بیش از حد داروها به وسیله CYP2D6 می‌گردد(۵ و۴).

سیتوکروم 2D6 (CYP2D6) به عنوان یکی از ژن‌های متابولیزه کننده ترکیبات گزنوبیوتیک و یکی از عوامل فعال کننده ترکیبات کارسینوژن بوده و ممکن است در افزایش ریسک ابتلا به سرطان‌ها مؤثر باشد. پلی‌مورفیسم این آنزیم به عنوان عامل فعال کننده و همچنین محافظت کننده در برابر ترکیبات گزنوبیوتیک، دارویی و احتمالاً کارسینوژن، امروزه مورد توجه زیادی قرار گرفته است(۹ـ۶).

ژن CYP2D6 به طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته و مطالعه‌ها نشان دادند که دارای پلی‌مورفیسم‌های متنوعی بوده و میزان فراوانی ژنوتیپی آن در نژادهای مختلف متفاوت می‌باشد. سطح بیان ژن و عملکرد آنزیم نیز در اقوام و نژادهای گوناگون متغیر است(۱۰ و ۵،۴).

مطالعه‌های ژنتیکی قومی و منطقه‌ای در زمینه اختلافات تک نوکلئوتیدی می‌تواند مبنای تشخیص و درمان فارماکولوژیک برخی از انواع بدخیمی‌ها شود. با توجه به تأثیر پلی‌مورفیسم ژن CYP2D6 در بروز سرطان پستان، این بررسی می‌تواند راهگشای تحقیقات بیشتر در زمینه شناخت درمان دارویی بیمار گردد و بدین منظور هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پلی‌مورفیسم ژن CYP2D6 *4 در ابتلا به سرطان پستان بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد ـ شاهدی در سال ۱۳۸۸ در دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. این مطالعه بر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان با میانگین سنی۱۲/۱±۴۵/۹۶ سال و ۱۰۰ فرد سالم با میانگین سنی ۱۱/۶۷±۴۶/۲۳ سال صورت پذیرفت. افراد بیمار از بین بیماران مراجعه کننده به بیمارستان قائم (عج) و بیمارستان امید در طی سال‌های ۱۳۸۸ـ۱۳۸۴ انتخاب شدند. افراد سالم و بیمار از نظر سنی و وضعیت قاعدگی همسان شدند. افراد مورد مطالعه از جمعیت ایرانی ساکن در خراسان بزرگ بودند. گروه

کنترل سابقهٔ ابتلا بـه سـرطان سـینه یـا بیمـاری‌هـای بدخیم پستان را نداشتند. از همه افراد مـورد پـژوهش نمونـه‌هـای خـون جمـع‌آوری شـده و بـه پژوهـشکده بوعلی، بخـش ایمونوژنتیـک منتقـل شـدند و تـا زمـان اسـتخراج DNA در فریـزر ۲۰- درجـه سـانتی‌گـراد نگهداری شدند.

محـل پلـی‌مورفیـسم ژن بـه وسـیله واکـنش زنجیره پلی‌مراز[1] با استفاده از پرایمرهای مـستقیم و معکـــوس $5'$ - GCTTCGCCAACCACTCCG $3'$ و $3'$ AAATCCTGCTCTTCCGAGGC - $5'$ تکثیـر شد(۱۱).

واکنش زنجیره پلی‌مراز بر روی ۲۵ میکرولیتر حجم حاوی ۰/۵ میکرومول از هر پرایمر، ژنوم DNA ۳۰۰ــ۲۰۰ نـانوگرم و بـافر ۲/۵ میکرولیتـر و dNTP ۲۰۰ میکرومول و کلرید منیزیم ۱/۵ میلـی‌مـول و نـیم واحد DNA پلی‌مراز انجام شد. مراحل دمایی واکـنش زنجیـره‌ای پلـی‌مـراز شـامل؛ ۵ دقیقـه در ۹۵ درجـه سانتی‌گراد و سپس ۳۵ سیکل شامل؛ ۰/۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، نیم دقیقه در ۵۹ درجه سانتی‌گـراد، ۰/۵ دقیقه در ۷۲ درجه سـانتی‌گـراد و ۵ دقیقـه در ۷۲ درجه سانتی‌گـراد انجـام شـد. پـس از انجـام واکـنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و تأیید یـک بانـد در موقعیـت ۳۳۴ جفت باز که نشان دهنده تکثیر قطعـهٔ مـورد نظـر طـی واکنش زنجیره‌ای پلـی‌مـراز اسـت، محـصول واکـنش زنجیره‌ای پلـی‌مـراز بـا آنـزیم محـدود کننـده BstNI ساخت شرکت فرمنتاز کشور لیتوانی بـرش داده شـد. سپس محصول اخیر بر روی ژل ۱۷ درصد پلی آکریل آمید الکتروفورز شد. قطعات تکثیـر یافتـه تحـت تـأثیر آنزیم قرار گرفتند.

داده‌هـــای جمـــع‌آوری شـــده بـــا اســـتفاده از نرم‌افزار SPSS [2] و آزمون‌های آماری مجذور کای[3] و تست دقیق فیشر[4] تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در انجـام بـرش بـه وسـیله آنـزیم BstNI در مورد قطعهٔ ژن تکثیر یافته سه حالت قابـل پـیش بینـی اسـت؛ وجـود موتاسـیون در هـر دو آلـل (4*/4*) یـا هموزیگوت AA که در آن سایت برش برای آنـزیم در هیچ یک از دو رشتهٔ DNA وجـود نـدارد، لـذا پـس از الکترو فورز نمونهٔ هضم شده روی ژل، یک بانـد ۳۳۴ جفت‌بـازی قابـل رؤیـت اسـت. فنوتیـپ ایـن افـراد بـه صورت متابولیزه کننده ضعیف [5] گزارش مـی‌گـردد، هتروزیگوت AG یا (wt/*4) که در این حالت در یکـی از دو رشـته DNA سـایت بـرش بـرای آنـزیم وجـود دارد، از این رو پـس از الکتروفـورز بـر روی ژل یـک باند ۳۳۴ جفت بازی دیده می‌شود که مربوط به رشته برش نخـورده مـی‌باشـد و دو بانـد ۲۳۰ و۱۰۴ جفـت بازی نیز قابل شناسـایی اسـت کـه مربـوط بـه رشـته برش خورده DNA به وسیله آنزیم BstNI می‌باشـد، کـه بـه صـورت فنوتیـپ متـابولیزه کننـده متوسـط[6] گزارش می‌گردد و هموزیگوت GG کـه در آن هـر دو

1-Polymeraes Chain Reaction(PCR)
2-Statistical Package for Social Sciences
3-Chi-Square Test
4-Fisher's Exact Test
5-Poor Metabolizer (PM)
6-Intermediate Metabolizer(IM)

زنجیره DNA حاوی سایت برش برای آنزیم BstNI هستند. در نتیجه طی RFLP هر دو رشته برش می‌خورند و پس از الکتروفورز محصول RFLP، برای چنین نمونه‌ای دو باند ۲۳۰ و ۱۰۴ جفت بازی مشاهده می‌شود. فنوتیپ این افراد نرمال بوده و به صورت متابولیزه کننده طبیعی[1] در نظر گرفته می‌شوند.

درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در کل جمعیت مورد بررسی برای ژنوتیپ‌های EM، IM و PM به ترتیب ۸۱، ۱۶ و ۶ درصد مشاهده شد. درصد فراوانی آللی در کل جمعیت مورد بررسی ۱۱ درصد برای آلل 4* و ۸۹ درصد برای آللwt مشاهده شد.

نتایج نشان داد که ۸۵ درصد بیماران دارای ژنوتیپ EM می‌باشند که این نسبت در گروه کنترل ۷۷ درصد می‌باشد. تعداد ۳ درصد بیماران و افراد کنترل ژنوتیپ PM داشتند. تعداد ۱۲ درصد بیماران ژنوتیپ IM داشتند که این نسبت در افراد کنترل ۲۰ درصد بود و در نهایت اختلاف معنی‌داری بین فراوانی ژنوتیپ‌ها در افراد بیمار و کنترل یافت نشد($p>0/05$)(جدول۱).

جدول۲ نشان دهندهٔ توزیع فراوانی آلل‌های 4* و wt در گروه‌های بیمار و کنترل است، که تفاوت معنی‌داری را بین فراوانی آلل‌ها در افراد بیمار و کنترل نشان نمی‌دهد($p>0/05$).

جدول۱. مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف در دو گروه بیمار و کنترل

ژنوتیپ / گروه	EM تعداد(درصد)	IM تعداد(درصد)	PM تعداد(درصد)	جمع کل تعداد(درصد)	سطح معنی‌داری
بیمار	۸۵(۸۵)	۱۲(۱۲)	۳(۳)	۱۰۰(۱۰۰)	>۰/۰۵
کنترل	۷۷(۷۷)	۲۰(۲۰)	۳(۳)	۱۰۰(۱۰۰)	

جدول۲: مقایسه فراوانی آلل 4* و wt بین دو گروه بیمار و کنترل.

گروه / نوع آلل	بیمار تعداد(درصد)	کنترل تعداد(درصد)	کل تعداد(درصد)	سطح معنی‌داری
*4	۱۸(۴۰/۹)	۲۶ (۵۹/۱)	۴۴ (۱۰۰)	>۰/۰۵
Wt	۱۸۲ (۵۱/۱)	۱۷۴ (۴۸/۹)	۳۵۶ (۱۰۰)	

1-Extensive Metabolizer (EM)

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در بین زنان است(۶و۱). اتیولوژی سرطان پستان به طور کامل شناخته نشده است، ولی عواملی همچون سن، رویدادهای تولید مثلی، هورمون‌های خارجی، شیوه زندگی و عوامل خطرزای محیطی، اشعه‌های یونیزان، ترکیبات شیمیایی و فاکتورهای ژنتیکی در سرطان پستان به عنوان عوامل اثرگذار شناسایی شده‌اند (۱۲ و۲). هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر پلی‌مورفیسم ژن CYP2D6 *4 در ابتلا به سرطان پستان بود.

فراوانی آلل 4* در افراد سالم در این تحقیق در کل جمعیت بیمار و سالم ۱۱ درصد به دست آمده است که نسبت به جمعیت آسیایی بیشتر و از جمعیت سفید پوست کمتر می‌باشد(۱۵). در مطالعه دیگری نیز که در افراد سالم و در خراسان انجام شد فراوانی آلل4* حدود ۹ درصد گزارش شده است(۱۳). نتایج حاصل از بررسی این آلل در جمعیت سالم مورد مطالعه مشابه درصد فراوانی این آلل در مطالعه‌ای است که در آذربایجان شرقی گزارش شده است(۱۴).

درصد فراوانی آلل‌های CYP2D6*4 در جمعیت‌های مختلف متفاوت است. فراوانی این آلل در جمعیت سفیدپوست ۲۱ـ۱۲ درصد و در نژاد آسیایی کمتر از ۱ درصد و در نژاد آفریقایی حدود ۷ درصد گزارش شده است. هم‌چنین در جنوب و مرکز آسیا فراوانی این آلل ۸/۱ درصد، در شرق آسیا ۲/۷ درصد و در آسیای میانه حدود ۶/۸ درصد گزارش شده است(۱۷ـ۱۵).

در مطالعه حاضر، تفاوت معنی‌داری در توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها بین دو گروه بیمار و کنترل وجود نداشت. به عبارت دیگر وجود یک یا دو آلل 4* تأثیری در افزایش خطر بروز سرطان پستان در جمعیت مورد مطالعه نداشته است. به علاوه تفاوت معنی‌داری بین فراوانی آلل 4*و wt در گروه بیمار و افراد سالم وجود نداشت.

در مطالعه‌های مختلف نیز ثابت شده است که درصد فراوانی ژنوتیپ‌های EM، IM و PM بین افراد بیمار و افراد سالم اختلاف معنی‌داری ندارند(۲۰ـ۱۸و۶).

در پژوهش‌های دیگری نتایج متناقضی مشاهده شد، به طوری که در مطالعه دکتر لادونا و همکاران[1](۱۹۹۶) درصد فراوانی ژنوتیپ‌های EM، IM و PM بین دو گروه بیمار و سالم تفاوت معنی‌داری داشتند(۲۱). همچنین در مطالعه دیگری مشاهده شد که افراد دارای فنوتیپ متابولیزه کنندگی ضعیف دو برابر بیشتر در معرض ابتلا به سرطان پستان می‌باشند(۲۲). نتایج مشابه در مطالعه پونتین و همکاران[2](۱۹۹۰) ارتباط بین فنوتیپ متابولیزه کنندگی

1-Ladona et al
2-Pontin et al

ضعیف و خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده شد(۲۳).

این نتایج متناقض ممکن است به دلیل محدودیت در ارزیابی فنوتیپ، تفاوت‌های نژادی در فراوانی ژنوتیپ‌های CYP2D6، عوامل مداخله‌گر غیر قابل کنترل در برخی مطالعه‌ها، تفاوت‌های جمعیتی در فاکتورهای عوامل خطر محیطی برای سرطان پستان و یا به دلیل محدودیت تعداد نمونه بیمار و افراد سالم باشد.

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که موتاسیون ژن CYP2D6*4 نقشی در ابتلا به سرطان پستان ندارد، اما با توجه به تأثیر مستقیم این آنزیم در متابولیزه نمودن داروهای مؤثر در درمان سرطان پستان و دیگر سرطان‌ها، بررسی آن می‌تواند کمک مؤثری در درمان و مدیریت آن و نتیجه حاصل از درمان برای انکولوژیست‌ها باشد.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد جهت تأمین هزینه مالی این پژوهش سپاس‌گزاری می‌شود.

Study of Polymorphism of CYP2D6*4 Gene in Susceptibility to Breast Cancer

Brook A [*],
Homaie F [**],
Tavakkol Afshari J [***],
Ganjali R [****],
Afzalaghaee M [******].

[*]MSc in Biochemistry, Immunology Research Center, Buali Institute, Mashhad University of Medical Sciences , Mashhad, Iran
[**]Assistant Professor of Oncology & Radiotherapy, Oncology & Radiotherapy Research Center, Ghaem & Omid Hospital, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[***] Associate Professor of Immunology, Immunology Research Center, Buali Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[****] MSc in Biotechnology, Immunology Research Center, Buali Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[******]Specialist in social sciences, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Received:02/09/2010
Accepted:06/11/2010

Corresponding Author:TavakkolAfshari J
Email: **Tavakolaj@Mums.ac.ir**

ABESTRACT:

Introduction & Objective: Breast cancer is the most frequent malignancy among women worldwide. Polymorphisms in Xenobiotic Metabolizing Enzymes (XEMs) and drugs such as P450 (CYP2D6) may increase susceptibility to breast cancer. Little is known about the association of CYP2D6*4 (1894 G to A) polymorphism and susceptibility to breast cancer. This study aimed to investigate the possible relationship of the CYP2D6 *4 gene polymorphism and breast cancer.

Materials & Methods: One hundred women with confirmed breast cancer and 100 healthy women were the subject of this study. Subjects were assessed for the gene polymorphism of CYP2D6 *4 by a PCR-RFLP assay at Mashad University of Medical Sciences in 2009. The collected data were analyzed by the SPSS using chi-square test and Fisher exact test.

Results: No correlation was found between CYP2D6*4 gene polymorphism and breast cancer (P=0.299).

Conclusion: Our results demonstrated that CYP2D6 *4 mutant displays a non-significant increased risk for breast cancer.

Key words: Breast cancer, Polymorphism, Mutation, CYP2D6*4

REFERENCES:

1.Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. Breast J 2007;13(4):383-91.
2.Martin M. Molecular biology of breast cancer. Clin Transl Oncol 2006; 8(1): 7-14.
3.Brunicardi F, Anderson D. Schwartz's principles of surgery. 9th ed. New York: Mc Graw-Hill companies; 2010; 110.
4.Zanger UM, Fischer J, Raimundo S, Stuven T, Evert BO, Schwab M, et al. Comprehensive analysis of the genetic factors determining expression and function of hepatic CYP2D6. Pharmacogenetics 2001; 11(7): 573-85.
5.Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2004; 369(1) : 23-37.
6.Khedhaier A, Hassen E, Bouaouina N, Gabbouj S, Ahmed SB, Chouchane L. Implication of Xenobiotic Metabolizing Enzyme gene (CYP2E1, CYP2C19, CYP2D6, mEH and NAT2) polymorphisms in breast carcinoma. BMC Cancer 2008; 8: 109.
7.Heim MH, Meyer UA. Evolution of a highly polymorphic human cytochrome P450 gene cluster: CYP2D6. Genomics 1992; 14(1): 49-58.
8.Ingelman-Sundberg M. Functional consequences of polymorphism of xenobiotic metabolising enzymes. Toxicol Lett 1998; 28(102-103):155-60.
9.Rodriguez-Antona C, Ingelman-Sundberg M. Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer. Oncogene 2006; 25(11): 1679-91.
10.Sistonen J, Sajantila A, Lao O, Corander J, Barbujani G, Fuselli S. CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. Pharmacogenet Genomics 2007;17(2): 93-101.
11.Sailaja K, Vishnupriya S, Surekha D, Rao DN, Rao DR. Association of CYP2D6*4 Polymorphism with Chronic Myeloid Leukemia. JMSR 2007; 1(1):43-6.
12.Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk - where do we stand in 2005?. J Cell Mol Med 2005; 9(1): 208-21.
13.Homaei-Shandiz F, Brook A ,Afshari JT, Pour AHM, Ganjali R, Fuladi JMA, et al. Study the Frequncy of CYP2D6*4 Null Allele In Iranian Population. Pharmacologyonline 2009; 3: 1003-7.
14.Kouhi H, Hamzeiy H, Barar J, Asadi M, Omidi Y. Frequency of five important CYP2D6 alleles within an Iranian population (Eastern Azerbaijan). Genet Test Mol Biomarkers 2009;13(5): 665-70.
15.Bradford LD. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. Pharmacogenomics 2002; 3(2): 229-43.
16.Alvan G, Bechtel P, Iselius L, Gundert-Remy U. Hydroxylation polymorphisms of debrisoquine and mephenytoin in European populations. Eur J Clin Pharmacol 1990; 39(6): 533-7.
17.Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. Am J Hum Genet 1997; 60(2): 284-95.
18.Topic E, Stefanovic M, Ivanisevic AM, Petrinovic R, Curcic I. The cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) gene polymorphism among breast and head and neck cancer patients. Clin Chim Acta 2000; 296(1-2): 101-9.
19.Smith CA, Moss JE, Gough AC, Spurr NK, Wolf CR. Molecular genetic analysis of the cytochrome P450-debrisoquine hydroxylase locus and association with cancer susceptibility. Environ Health Perspect 1992; 98: 107-12.
20.Buchert ET, Woosley RL, Swain SM, Oliver SJ, Coughlin SS, Pickle L, et al. Relationship of CYP2D6 (debrisoquine hydroxylase) genotype to breast cancer susceptibility. Pharmacogenetics 1993; 3(6):322-7.

21.Ladona MG, Abildua RE, Ladero JM, Roman JM, Plaza MA, Agundez JA, et al. CYP2D6 genotypes in Spanish women with breast cancer. Cancer Lett 1996; 99(1): 23-8.
22.Ladero JM, Benitez J, Jara C, Llerena A, Valdivielso MJ, Munoz JJ, et al. Polymorphic oxidation of debrisoquine in women with breast cancer. Oncology 1991; 48(2): 107-10.
23.Pontin JE, Hamed H, Fentiman IS, Idle JR. Cytochrome P450dbl phenotypes in malignant and benign breast disease. Eur J Cancer 1990; 26(7): 790-2.
24.Jordan VC. Tamoxifen: a most unlikely pioneering medicine. Nat Rev Drug Discov 2003; 2(3): 205-13.
25.Jin Y, Desta Z, Stearns V, Ward B, Ho H, Lee KH, et al. CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism during adjuvant breast cancer treatment. J Natl Cancer Inst 2005 5; 97(1):30-9.
26.Goetz MP, Rae JM, Suman VJ, Safgren SL, Ames MM, Visscher DW, et al. Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. J Clin Oncol 2005; 23(36): 9312-8.
27.Stearns V, Johnson MD, Rae JM, Morocho A, Novielli A, Bhargava P, et al. Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. J Natl Cancer Inst 2003; 95(23):1758-64.