

Механизмы развития и пути преодоления эндокринной резистентности при раке молочной железы

Mechanisms of development and the ways to overcome endocrine resistance in breast cancer

Цитирование: Khisamov A. A., Manujlova O. O., Byakhov M. Y. Mechanisms of development and the ways to overcome endocrine resistance in breast cancer. *Malignant Tumours* 2015; 4: 52–61

DOI: 10.18027/2224–5057–2015–4–52–61

Около 70% случаев рака молочной железы (РМЖ) представляют собой гормон-чувствительные опухоли, и основным методом лечения таких опухолей является антиэстрогеновая терапия. На данный момент времени, существенной проблемой остается развитие эндокринной резистентности при применении гормонального лечения. В статье приведен обзор литературы о сигнальных путях, регулирующих опухолевый рост, механизмах развития эндокринной резистентности и о возможных путях ее преодоления.

Summary

About 70% of cases of breast cancer (BC) are hormone-dependent tumors and the main method of treatment of such patients is antiestrogen therapy. At this time, development of endocrine resistance during this type of treatment remains a significant problem. This article reviews literature on signal pathways that regulate tumor growth, mechanisms of development of endocrine resistance and possible ways to overcome it.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

гормон-чувствительный рак молочной железы, антиэстрогеновая терапия, эндокринная резистентность

KEY WORDS

hormone-dependant breast cancer, antiestrogen therapy, endocrine resistance

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Хисамов Артур Альбертович – врач-хирург ГБУЗ МКНЦ ДЗМ, г. Москва, e-mail: a.khisamov@mknc.ru

Мануйлова Ольга Олеговна – зам. заведующего Клиники женского здоровья ГБУЗ МКНЦ ДЗМ, г. Москва

Бяхов Михаил Юрьевич – д.м.н., профессор, зам. директора по онкологии ГБУЗ МКНЦ ДЗМ, г. Москва

CONTACT INFORMATION

Khisamov Artur Albertovich – general surgeon, Moscow Clinical Scientific Center, e-mail: a.khisamov@mknc.ru

Manujlova Olga Olegovna – Deputy Chief of Woman's Health Clinic of Moscow Clinical Scientific Center

Byakhov Mikhail Yuryevich – MD, PhD, DSc, Professor, Deputy Director of Moscow Clinical Scientific Center for Oncology

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы – наиболее часто встречаемый вид инвазивного рака у женщин во всем мире и составляет 22.9% от всех видов инвазивного рака и 16% в структуре

всей онкопатологии у женщин. В 2008 году рак молочной железы унес жизни 458,503 человек [1].

Около 70% опухолей являются гормон-зависимыми, являясь позитивными по наличию рецептора эстрогена – альфа (PЭ) и/или прогестерона, которые являются

главными стимуляторами роста и развития таких новообразований [2].

Поэтому воздействие на этот рецепторный путь является основной целью эндокринной терапии РЭ-позитивных опухолей. Несмотря на все успехи этого вида терапии, существенной проблемой на данный момент времени является наличие или развитие эндокринной резистентности при раке молочной железы [3].

Экспрессия РЭ зависит от возраста пациента, коррелирует с большей степенью дифференцировки, меньшей пролиферативной активностью опухоли, меньшей частотой анеуплоидии, меньшей частотой амплификации онкогена *erbB2* (HER2) и сопутствующей потерей опухолевого супрессора гена *p53*, большей экспрессией рецепторов прогестерона (ПП) и частотой метастазирования [4, 5, 6]. Она не связана с наличием метастазов в лимфоузлах и не коррелирует с рецидивом заболевания в отдаленном периоде и смертности после первичной терапии [6].

Эндокринная терапия является наиболее эффективным методом лечения метастатического РЭ-положительно РМЖ, однако ее эффективность ограничена наличием врожденной резистентности, либо резистентности, приобретенной во время лечения. Так, только около 30% пациентов с метастатической опухолью демонстрируют объективную регрессию после начала эндокринной терапии, а еще 20% имеют после такого лечения стабилизацию заболевания [7].

В последние годы опубликовано большое количество работ, фокусирующихся на попытках понять и обойти механизмы эндокринной резистентности, также были сделаны многочисленные попытки выявить пациентов, у которых в процессе лечения разовьется эндокринная резистентность и которым потребуется дополнительное лечение [8]. Понимание механизмов, отвечающих за развитие эндокринной резистентности, лежит в основе подбора успешного лечения, направленного на подавление метастазирования как перед оперативным вмешательством, так и после него [7].

ПРОДУКЦИЯ ЭСТРОГЕНА

Эстрогены – группа женских половых гормонов, образующихся в основном в яичниках, которые ответственны за развитие женской репродуктивной системы и вторичных половых признаков. Как в пре-, так и в постменопаузе продукция эстрогена у женщин в норме осуществляется в основном в подкожно-жировой клетчатке, груди, мышечной ткани и костях, где в ходе сложной химической реакции с помощью фермента ароматазы происходит их превращение из андрогенов (андростендион и тестостерон) [9, 10, 11, 12].

В то же время в опухолевой ткани экспрессия ароматазы наибольшая в фибробластах [14]. Остаточный уровень эстрогенов часто присутствует у женщин в постменопаузе, несмотря на выключение эстроген-продуцирующей функции яичников, и примерно в 20 раз превышает таковую у женщин в пременопаузе [9, 10, 15].

У женщин в постменопаузе отмечено значительное увеличение риска развития РМЖ при повышении уровня эстрогенов плазмы [16]. Было показано, что транскрипция и концентрация ароматазы у женщин, больных РМЖ, значительно различается в разных квадрантах молочной железы, а наибольшая ее концентрация отмечена в квадранте, пораженном опухолью [17]. Есть доказательства, что это происходит вследствие продукции опухолевыми клетками простагландинов и провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-11 и ФНО- α), которые увеличивают активность ароматазы в фибробластах за счет интрацеллюлярного цАМФ-опосредованного пути и регуляции гена ароматазы *CYP19* [18, 19].

ЭСТРОГЕНОВЫЙ СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ

В гормон-зависимых опухолях эстроген захватывается раковыми клетками либо из плазмы, либо из микроокружения. Попадая в клетку он связывается с РЭ, вызывая диссоциацию белков теплового шока (БТШ) от молекулы РЭ. После связывания с эстрогеном, РЭ связывается с другой такой же мономерной молекулой, создавая димер, который связывается с коактиваторами и корепрессорами в различных локусах ДНК [6, 20], формируя элемент ответа эстрогену (ERE, estrogen response element). РЭ – это нуклеарный рецептор, состоящий из двух отдельных доменов: AF1 (activation function) в amino-терминальной позиции и AF2 – в карбокситерминальной [21, 22, 23]. AF1 регулируется факторами роста через сигнальный путь MAPK (mitogen-activated protein kinase), в то время как AF2, расположенный в лиганд-связывающей части РЭ, активируется эстрогеном [21, 24]. Полная активность РЭ требует активации как AF1, так и AF2 [25]. Затем ERE связывается с убиквитином, который активирует его протеосомальную деградацию; это означает, что каждая молекула РЭ предназначена лишь для одного цикла эстрогенового сигнального пути [26]. Впервые ERE был обнаружен в геномной локации у вида *Xenopus laevis*, а затем выявлен в промотерных регионах нескольких сотен генов человека [27, 28, 29].

Было выявлено два механизма взаимодействия РЭ с ERE: «основное связывание», при котором молекула РЭ связывается с ERE и молекулами коактиваторов либо корепрессоров с дальнейшей активацией транскрипции комплекса РНК-полимеразы-II, и «альтернативное связывание», когда

молекула эстрогена связывается не с ERE, а взаимодействует с другим ДНК-связанным фактором транскрипции, либо стабилизируя его, либо привязывая дополнительные кофакторы к этому комплексу [20, 30].

Эстрогеновый рецепторный путь также регулируется мембранными рецепторами тирозин-киназами, включая рецептор эпидермального фактора роста (EGFR, epidermal growth factor receptor), HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) и рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGF1-R, insulin-like growth factor receptor). Эти мембранные киназы активируют сигнальные пути за счет фосфорилирования РЭ и его коактиваторов и кореперессоров, чтобы влиять на их специфические функции [31, 32, 33, 34]. Перекрестное взаимодействие между эстрогеновым сигнальным путем и сигнальным путем факторов роста осуществляется несколькими другими механизмами. Эстроген может увеличить экспрессию таких лигандов, как TGF α (transforming growth factor- α) и IGF1 [35, 36, 37, 38], которые затем активируют сигнальный путь факторов роста [31, 37, 39]. С другой стороны, эстрогеновый сигнальный путь уменьшает экспрессию EGFR и HER2, а экспрессию IGF1, наоборот, увеличивает [40, 41, 42]. Активация сигнальных путей PI3K/AKT и p24/44 митоген-активированной протеинкиназы (MAPK), наоборот, уменьшает экспрессию РЭ и РП [43, 44, 45, 46, 47, 48].

Исследования также говорят, что действие РЭ может осуществляться не только через транскрипцию. Небольшие уровни РЭ обнаруживаются также вне клеточного ядра – на мембране, в цитоплазме и даже в митохондриях [49]. Так, РЭ через эти неядерные пути может повысить экспрессию генов, в норме регулируемых факторами роста [49, 50]. Также РЭ могут быть активированы через сигнальный путь стрессовых киназ (p38 и JNK) за счет фосфорилирования РЭ и его корегуляторов [51, 52]. Наконец, микроокружение опухолевых клеток может действовать схожим образом через интегративный сигнальный путь [53].

ЭНДОКРИННАЯ ТЕРАПИЯ

Впервые связь между гормонами и РМЖ в 1896 г. показал Джордж Бетсон (George Beatson), хирург из Глазго, показав, что при хирургическом удалении яичников у пациентов, больных распространенным РМЖ, отмечается регрессия метастатических очагов. В 1937 г. Доддс (Dodds) и Робертсон (Robertson) синтезировали диэтилстильбоэстрол, продемонстрировавший активность в отношении РМЖ, однако его применение было ограничено ввиду тяжелых побочных эффектов. В 1973 г. для лечения гормон-зависимого РМЖ в клиническую практику был внедрен антиэстрогенный препарат тамоксифен, ставший

главным средством эндокринной терапии на последующие 30 лет. Основной принцип действия эндокринной терапии состоит в воздействии на эндокринные сигнальные пути за счет введения экзогенных гормональных антагонистов, ингибирующих синтез и/или активность эстрогена [8], ее активность является в большей мере цитостатической, нежели цитотоксичной, уменьшая пролиферацию и рост опухолевых клеток [54], что достигается за счет остановки клеточного цикла в фазе G1/S [55].

Сегодня эндокринная терапия является основным методом лечения РЭ-позитивного РМЖ и может использоваться самостоятельно, либо в комбинации с химиотерапией, которая является более токсичной [56, 57].

Тамоксифен принадлежит к группе селективных модуляторов рецепторов эстрогена (selective estrogen receptor modulator, SERM). Механизм его действия основан на прерывании эстрогенового сигнального пути за счет конкурирующего связывания РЭ внутри ядра, что приводит к структурным изменениям в формировании димера РЭ и к связыванию места прикрепления коактиватора (AF2), что в свою очередь делает это невозможным. Таким образом, значительно уменьшается регулируемая эстрогеном транскрипция генов [25, 58, 59]. Это ведет к неполному блокированию эстрогенового сигнального пути за счет остающегося активным AF1 [2, 25].

В 2002 году в клиническую практику был внедрен фулвестрант, относящийся к группе селективных ингибиторов рецепторов эстрогена (selective estrogen receptor downregulator, SERD). Механизм его действия заключается в конкурирующем связывании РЭ в ядерном матриксе, что в последующем приводит к убиквитин-опосредованной протеосомальной деградации РЭ [60]. Было показано, что *in vitro* фулвестрант является более сильным препаратом, чем тамоксифен. Это, в первую очередь, обусловлено тем фактом, что фулвестрант блокирует активность как AF1, так и AF2, не давая связаться комплексу ERE с кофактором в генах, регулируемых эстрогеном [25, 61, 62].

Другими широко применяемыми в клинической практике лечения гормон-зависимого РМЖ являются ингибиторы ароматазы третьего поколения. Они делятся на две подгруппы – необратимые стероидные ингибиторы (тип I), к которым относится аналог андростендиона экземестан, и нестероидные ингибиторы ароматазы (тип II), к которым относится летрозол и анастразол [8]. Механизм действия основывается на необратимом и дезактивирующем связывании ароматазы (тип I), либо на обратимом и конкурирующем связывании этого фермента (тип II), что значительно уменьшает локальный биосинтез эстрогена, уменьшая концентрацию эстрогена внутри опухолевой ткани [2, 8, 63, 64, 65].

Эндокринная терапия также может быть применена в лечении гормон-зависимого РМЖ у женщин в пременопау-

зе, где ее применяют в комбинации с гозерелином с целью подавить продукцию эстрогена яичниками [66].

Эндокринная резистентность

В настоящее время опубликовано множество работ, освещающих направления в поисках путей обойти эндокринную резистентность при РМЖ. Наиболее изученные приведены в табл. 1.

Таблица 1.
Основные направления поиска способов преодолеть эндокринную резистентность [7]

Уменьшение количества или потеря РЭ
Повышение активности HER2 после эндокринной терапии
Потеря РП после прогрессирования на фоне проводимой эндокринной терапии
Ответ на лечение при смене вида эндокринной терапии
Меньшая продолжительность и меньшая частота ответа на лечение при смене эндокринной терапии
Уменьшение клинического эффекта при назначении высоких доз препаратов при эндокринной терапии
Возможная потеря зависимости от эстрогена с потерей чувствительности к эндокринной терапии
Меньшая клиническая эффективность при низкодифференцированных, быстро пролиферирующих, имеющих большее количество баллов при оценке по 21 гену РЭ-положительных опухолей

Потеря РЭ со временем отмечается примерно у 20% пациентов, получавших эндокринную терапию. Такие опухоли больше не регулируются эстрогеном, но пути развития резистентности, появляющиеся при потере РЭ, до сих пор четко не выявлены [67, 68, 69].

Повышение активности HER2 за счет амплификации генов или их гиперэкспрессии обнаружены в некоторых опухолях [68, 70, 71].

HER2 может являться ведущим фактором в прогрессии опухоли, являясь альтернативным путем выживания, либо уменьшая уровень РЭ, делая опухоль менее чувствительной к эстрогену [43, 72].

С другой стороны, РП теряются опухолью после начала эндокринной терапии гораздо чаще, нежели РЭ, в связи с чем опухоль становится более агрессивной, а у пациентов с такими опухолями выживаемость хуже, чем у пациентов, больных опухолями, сохранивших РП [73, 75].

Получение ответа на лечение одним из видов эндокринной терапии после прогрессии заболевания на фоне лечения другим видом – исторически известный факт, являющийся ключевым в лечении метастатической болезни при РМЖ [7].

Опухоли у таких пациентов все еще чувствительны к эндокринной терапии, но стали резистентны к терапии, которая проводилась. Хорошим примером этого феномена является получение клинического эффекта при назначении

ингибиторов ароматазы или фулвестранта после прогрессии на фоне терапии тамоксифеном [75, 76].

Последующий ответ при многократной смене вида эндокринной терапии становится короче по времени, чему также сопутствует количество РЭ, что, в свою очередь, ведет к переходу опухоли от зависимости к эстрогену к альтернативным путям регулирования.

Назначение высоких доз эстрогена было первым видом эндокринной терапии при РМЖ, впоследствии замещенным менее токсичными тамоксифеном и ингибиторами ароматазы. Важно отметить, что пациенты, ответившие на лечение высокими дозами эстрогена, а затем спрессиовавшие, зачастую отвечали вследствие простого уменьшения уровня эстрогена. В итоге, все опухоли перестают регулироваться эстрогеном, даже в случаях экспрессии РЭ за счет механизмов, которые до сих пор неизвестны и которых становится все больше с прогрессией опухоли и с увеличением ее агрессивности [7].

В соответствии с изложенными фактами, в настоящее время принято выделять несколько типов эндокринной резистентности при РМЖ (табл. 2).

Таблица 2.
Типы эндокринной резистентности при РМЖ [7]

Резистентность de novo
Появившаяся в результате лечения
Потеря чувствительности к эстрогену вследствие потери РЭ
Потеря чувствительности к эстрогену несмотря на наличие РЭ
Резистентность к специфической терапии, при которой опухоль чувствительна к эстрогену

Молекулярные механизмы эндокринной резистентности
На данный момент времени известны факторы, подтверждающие важную роль взаимодействия между рецепторами факторов роста и РЭ, которая ведет к возникновению эндокринной резистентности.

Так, гиперэкспрессия факторов роста семейства EGFR тирозинкиназ, в частности HER2, ведет к возникновению резистентности de novo к антиэстрогенным препаратам. HER2 фосфорилирует РЭ и его корегуляторы, приводя к лиганд-независимому пути активации экспрессии генов, даже в присутствии лекарств группы SERM [77]. Также есть доказательства того, что длительная антиэстрогеновая терапия может индуцировать транскрипцию рецепторов факторов роста (EGFR, HER2 и IGF-1R), что повышает активность их медиаторов и увеличивает пролиферацию клеток, в конечном итоге это ведет к независимости от эстрогенового пути регулирования [40, 78, 79].

Немаловажное место в возникновении эндокринной резистентности играет сигнальный путь фосфатидилинозитола 3-киназы (PI3K)-Akt-мишени рапамицина

у млекопитающих (phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-Akt-mammalian), более известный как mTOR-сигнальный путь, который является убиквитин-опосредованным сигнальным путем, также связанным с другими рецепторами тирозинкиназы, включая семейство EGFR [80, 81, 82]. Этот сигнальный путь активируется за счет увеличения активности сигнального пути рецепторов тирозинкиназы, активации PI3K-мутаций, уменьшения экспрессии негативных регуляторов этого пути (в том числе PTEN, phosphatase and tensin homolog) при разных типах рака и регулирует множество клеточных функций (рост, пролиферация, дифференцировка, метаболизм, миграция и выживание) [83]. Нарушение регуляции этого пути приводит к возникновению приобретенной эндокринной резистентности [77]. В одном доклиническом исследовании было показано, что клетки с высокой активностью Akt, изначально резистентные к гормональной терапии, становятся чувствительны к ней после применения ингибиторов mTOR-сигнального пути [84].

Мутации ESR1, гена кодирующего РЭ также негативно влияют на ответ к эндокринной терапии. Было показано, что при длительной гормональной терапии частые мутации в этом гене влияют на лиганд-связывающий домен РЭ при метастатическом гормон-резистентном РМЖ, что приводит к агонист-направленным изменениям в структуре рецептора, которые становятся независимыми от эстрогенового сигнального пути [85]. Важно отметить, что такие измененные РЭ сохраняют некоторую чувствительность к препаратам, которые в основном нацелены на рецептор, вследствие этого более сильные антагонисты РЭ могут быть эффективны у этой подгруппы больных [77].

ПУТИ ПРЕОДОЛЕНИЯ ЭНДОКРИННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

В настоящее время можно выделить несколько направлений исследований, направленных на преодоление эндокринной резистентности при раке молочной железы. Наиболее распространенный подход для преодоления вторичной резистентности – смена режима гормонотерапии. Например, при прогрессии на фоне тамоксифена стандартным решением является применение фулвестранта или ингибиторов ароматазы [7]. Было показано, что раковые клетки, экспрессирующие мутантные РЭ, становятся резистентными к тамоксифену, а применение фулвестранта в таких случаях помогает добиться эффекта, ввиду того, что механизм действия последнего сводится к уменьшению активности РЭ и их ускоренной деградации [77]. Так, в исследовании CONFIRM при применении фулвестранта в дозе 500 мг у женщин с неопе-

рабельным эстроген-рецептор-положительным раком молочной железы, который прогрессировал после адъювантной эндокринной терапии или эндокринной терапии первой линии, наблюдались статистически значимые преимущества в первичной конечной точке исследования – выживаемости без прогрессирования – по сравнению с фулвестрантом в дозе 250 мг каждые 28 дней (медианы выживаемости без прогрессирования составили 6,5 и 5,5 мес при дозах 500мг и 250мг соответственно). Помимо этого, наблюдались преимущества во вторичных конечных точках, в частности в общей выживаемости, которая достигла 26,4 месяца в группе фулвестранта 500 мг [86, 87].

Также при развитии резистентности применяется комбинация ингибиторов ароматазы с ингибиторами PI3K-Akt-mTOR-сигнального пути, который является лиганд-независимым путем активации РЭ, ответственным за активацию генов, регулируемых РЭ, даже в присутствии антиэстрогенных препаратов [31]. Следовательно, использование mTOR-ингибиторов (эверолимус) может устранить эти эффекты [77]. В исследование второй фазы BOLERO-2 было включено 724 пациентки с распространенным гормоночувствительным РМЖ, у которых диагностирован рецидив или прогрессия после лечения нестероидными ингибиторами ароматазы (летрозол и анастрозол), которые были рандомизированы в 2 группы: эксеместан 25 мг/день + эверолимус 10 мг/день и эксеместан 25 мг/день + плацебо. Промежуточный анализ показал значительное увеличение выживаемости без прогрессии (6,9 мес и 2,8 мес соотв.), и исследование было остановлено [88].

Следует обратить внимание на специфическую группу пациентов с HER2-положительными опухолями, т.к. около половины из них экспрессируют гормональные рецепторы, что явилось предпосылкой исследования эффективности комбинации анти-HER2-таргетной терапии (трастузумаб) в комбинации с антигормональной терапией. Так, в исследовании TanDEM III фазы было показано, что комбинация трастузумаба с анастрозолом в сравнении с монотерапией анастрозолом привела к увеличению вдвое выживаемости без прогрессии (с 2,4 мес до 4,8 мес) и значительному увеличению частоты ответа на лечение (с 6,8% до 20,3%) [89]. В крупном двойном слепом рандомизированном исследовании III фазы «EGF30008», в которое были включены 1286 пациенток с гормоночувствительным РМЖ (у 219 пациенток были HER2-позитивные опухоли) сравнивалась эффективность комбинации летрозола (2,5 мг) с HER1-HER2-ингибитором тирозинкиназы лапатинибом (1500 мг) и монотерапии летрозолом (2,5 мг). В первой группе удалось добиться значительного увеличения выживаемости без прогрессии [90, 91].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прорыв в лечении гормон-чувствительного РМЖ произошел после внедрения в клиническую практику антиэстрогеновой терапии более трех десятков лет назад. Однако эндокринная резистентность, возникающая в ходе лечения таких пациентов, до сих пор является существенной проблемой. Устойчивость к антиэстрогеновой терапии является мультифакториальной проблемой, в которой задействовано множество сигнальных путей, которые взаимодействуют как с сигнальным путем РЭ, так и меж-

ду собой. Каждый год появляется множество работ, посвященных молекулярным механизмам эндокринной резистентности, ведущих к постепенному внедрению в клиническую практику таргетных препаратов. На сегодняшний день можно заключить, что эффективное лечение гормон-чувствительного РМЖ возможно лишь при тщательном исследовании молекулярной природы опухоли у каждого конкретного пациента и, соответственно, целенаправленного подбора схемы лечения.

ЛИТЕРАТУРА • REFERENCES

1. "World Cancer Report". International Agency for Research on Cancer. 2008. Retrieved 2011-02-26.
2. S.R.D. Johnston and M. Dowsett, "Aromatase inhibitors for breast cancer: lessons from the laboratory," *Nature Reviews Cancer*, vol. 3, no. 11, pp. 821-831, 2003.
3. A. A. Larionov and W. R. Miller, "Challenges in defining predictive markers for response to endocrine therapy in breast cancer," *Future Oncology*, vol. 5, no. 9, pp. 1415-1428, 2009.
4. Clark GM, Osborne CK, McGuire WL. 1984. Correlations between estrogen receptor, progesterone receptor, and patient characteristics in human breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2: 1102-9.
5. Wenger CR, Beardslee S, Owens MA, et al. 1993. DNA ploidy, S-phase, and steroid receptors in more than 127,000 breast cancer patients. *Breast Cancer Res. Treat.* 28: 9-20.
6. Schiff R, Osborne CK, Fuqua SA. 2009. Clinical aspects of estrogen and progesterone receptors. In *Diseases of the Breast*, ed. JR Harris, ME Lippman, M Morrow, CK Osborne, pp. 408-30. Philadelphia: Wolters Kluwer/LippincottWilliams & Wilkins. 4th ed.
7. Osborne CK, Schiff R. Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer. *Annu Rev Med.* 2011;62:233-47. doi: 10.1146/annurev-med-070909-182917. Review.
8. J. M. Dixon. Endocrine Resistance in Breast Cancer. *New Journal of Science*. Volume 2014, Article ID390618, 27 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/390618>
9. E. R. Simpson and M. Dowsett. Aromatase and its inhibitors: significance for breast cancer therapy. *Recent Progress in Hormone Research*, vol. 57, pp. 317-338, 2002.
10. A. A. Larionov, D. A. Vasyliov, J. I. Mason, A. F. Howie, L. M. Berstein, and W. R. Miller, "Aromatase in skeletal muscle," *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 84, no. 4, pp. 485-492, 2003.
11. E. Perel and D. W. Killinger. The interconversion and aromatization of androgens by human adipose tissue. *Journal of Steroid Biochemistry*, vol. 10, no. 6, pp. 623-627, 1979.
12. C. Longcope, J. H. Pratt, S. H. Schneider, and S. E. Fineberg, "Aromatization of androgens by muscle and adipose tissue in vivo," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 46, no. 1, pp. 146-152, 1978.
13. H. Sasano, M. Uzuki, T. Sawai et al. Aromatase in human bone tissue. *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 12, no. 9, pp. 1416-1423, 1997.
14. W. R. Miller and A. P. M. Forrest, "Oestradiol synthesis by a human breast carcinoma," *The Lancet*, vol. 2, no. 7885, pp. 866-868, 1974.
15. J. R. Pasqualini, G. Chetrite, C. Blacker et al., "Concentrations of estrone, estradiol, and estrone sulfate and evaluation of sulfatase and aromatase activities in pre- and postmenopausal breast cancer patients," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 81, no. 4, pp. 1460-1464, 1996.
16. T. J. Key, "Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies," *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 94, no. 8, pp. 606-616, 2002.
17. W. R. Miller and J. O'Neill, "The importance of local synthesis of estrogen within the breast," *Steroids*, vol. 50, no. 4-6, pp. 537-548, 1987. S. E. Bulun, G. Sharda, J. Rink, S. Sharma, and E. R. Simpson, "Distribution of aromatase p450

- transcripts and adipose fibroblasts in the human breast," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 81, no. 3, pp. 1273–1277, 1996.
18. N. Harada, T. Utsumi, and Y. Takagi, "Tissue-specific expression of the human aromatase cytochrome P-450 gene by alternative use of multiple exons 1 and promoters, and switching of tissuespecific exons 1 in carcinogenesis," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 90, no. 23, pp. 11312–11316, 1993.
 19. M. P. Schrey and K. V. Patel, "Prostaglandin E2 production and metabolism in human breast cancer cells and breast fibroblasts. Regulation by inflammatory mediators," *British Journal of Cancer*, vol. 72, no. 6, pp. 1412–1419, 1995.
 20. C. M. Klinge, "Estrogen receptor interaction with estrogen response elements," *Nucleic Acids Research*, vol. 29, no. 14, pp. 2905–2919, 2001.
 21. V. Kumar, S. Green, G. Stack, M. Berry, J. Jin, and P. Chambon, "Functional domains of the human estrogen receptor," *Cell*, vol. 51, no. 6, pp. 941–951, 1987.
 22. M. Beato, "Gene regulation by steroid hormones," *Cell*, vol. 56, no. 3, pp. 335–344, 1989.
 23. M. Tsai and B. W. O'Malley, "Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members," *Annual Review of Biochemistry*, vol. 63, pp. 451–486, 1994.
 24. S. Kato, H. Endoh, Y. Masuhiro et al., "Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase," *Science*, vol. 270, no. 5241, pp. 1491–1494, 1995.
 25. A. E. Wakeling, "Similarities and distinctions in the mode of action of different classes of antioestrogens," *Endocrine-Related Cancer*, vol. 7, no. 1, pp. 17–28, 2000.
 26. G. Reid, M. R. Hubner, R. Metivier et al., "Cyclic, proteasome-mediated turnover of unliganded and liganded ER on responsive promoters is an integral feature of estrogen signaling," *Molecular Cell*, vol. 11, no. 3, pp. 695–707, 2003.
 27. V. Bourdeau, J. Deschênes, R. Metivier et al., "Genome-wide identification of high-affinity estrogen response elements in human and mouse," *Molecular Endocrinology*, vol. 18, no. 6, pp. 1411–1427, 2004.
 28. L. Klein-Hitpass, G. U. Ryffel, E. Heitlinger, and A. C. B. Cato, "A 13 bp palindrome is a functional estrogen responsive element and interacts specifically with estrogen receptor," *Nucleic Acids Research*, vol. 16, no. 2, pp. 647–663, 1988.
 29. S. Kamalakaran, S. K. Radhakrishnan, and W. T. Beck, "Identification of estrogen-responsive genes using a genome-wide analysis of promoter elements for transcription factor binding sites," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 280, no. 22, pp. 21491–21497, 2005.
 30. A. Scholz, M. Truss, and M. Beato, "Hormone-induced recruitment of Sp1 mediates estrogen activation of the rabbit uteroglobin gene in endometrial epithelium," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 273, no. 8, pp. 4360–4366, 1998.
 31. Schiff R, Massarweh SA, Shou J, Bharwani L, Mohsin SK, Osborne CK. Cross-talk between estrogen receptor and growth factor pathways as a molecular target for overcoming endocrine resistance. *Clin Cancer Res*. 2004 Jan 1; 10 (1 Pt 2): 331S-6S.
 32. Shou J, Massarweh S, Osborne CK, et al. 2004. Mechanisms of tamoxifen resistance: increased estrogen receptor-HER2/neu cross-talk in ER/HER2-positive breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 96: 926–35.
 33. Wu RC, Smith CL, O'Malley BW. 2005. Transcriptional regulation by steroid receptor coactivator phosphorylation. *Endocr. Rev.* 26: 393–99.
 34. Schiff R, Massarweh S, Shou J, et al. 2003. Breast cancer endocrine resistance: how growth factor signaling and estrogen receptor coregulators modulate response. *Clin. Cancer Res.* 9: 447S-54S.
 35. Kushner PJ, Agard DA, Greene GL, et al. 2000. Estrogen receptor pathways to AP-1. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 74: 311–17.
 36. Vyhldal C, Samudio I, Kladdé MP, et al. 2000. Transcriptional activation of transforming growth factor alpha by estradiol: requirement for both a GC-rich site and an estrogen response element half-site. *J. Mol. Endocrinol.* 24: 329–38.
 37. Lee AV, Cui X, Oesterreich S. 2001. Cross-talk among estrogen receptor, epidermal growth factor, and insulin-like growth factor signaling in breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 7: 4429S-35S, discussion (4411S-12S).
 38. Umayahara Y, Kawamori R, Watada H, et al. 1994. Estrogen regulation of the insulin-like growth factor I gene transcription involves an AP-1 enhancer. *J. Biol. Chem.* 269: 16433–42.
 39. Nicholson RI, Hutcheson IR, Hiscox SE, et al. 2005. Growth factor signaling and resistance to selective oestrogen receptor modulators and pure antioestrogens: the use of antigrowth factor therapies to treat or delay endocrine resistance in breast cancer. *Endocr. Relat. Cancer* 12(Suppl. 1): S29–S36.

40. Yarden RI, Wilson MA, Chrysogelos SA. 2001. Estrogen suppression of EGFR expression in breast cancer cells: a possible mechanism to modulate growth. *J. Cell Biochem. Suppl.* 36:232–46.
41. Newman SP, Bates NP, Vernimmen D, et al. 2000. Cofactor competition between the ligand-bound oestrogen receptor and an intron 1 enhancer leads to oestrogen repression of ERBB2 expression in breast cancer. *Oncogene* 19:490–97.
42. Massarweh S, Osborne CK, Creighton CJ, et al. 2008. Tamoxifen resistance in breast tumors is driven by growth factor receptor signaling with repression of classic estrogen receptor genomic function. *Cancer Res.* 68:826–33.
43. Bayliss J, Hilger A, Vishnu P, et al. 2007. Reversal of the estrogen receptor negative phenotype in breast cancer and restoration of antiestrogen response. *Clin. Cancer Res.* 13:7029–36.
44. Lopez-Tarruella S, Schiff R. 2007. The dynamics of estrogen receptor status in breast cancer: reshaping the paradigm. *Clin. Cancer Res.* 13:6921–25.
45. Cui X, Zhang P, Deng W, et al. 2003. Insulin-like growth factor-I inhibits progesterone receptor expression in breast cancer cells via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin pathway: progesterone receptor as a potential indicator of growth factor activity in breast cancer. *Mol. Endocrinol.* 17:575–88.
46. Cui X, Schiff R, Arpino G, et al. 2005. Biology of progesterone receptor loss in breast cancer and its implications for endocrine therapy. *J. Clin. Oncol.* 23:7721–35.
47. Guo S, Sonenshein GE. 2004. Forkhead box transcription factor FOXO3a regulates estrogen receptor alpha expression and is repressed by the Her-2/neu/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway. *Mol. Cell Biol.* 24:8681–90.
48. Creighton CJ, Fu X, Hennessy BT, et al. 2010. Proteomic and transcriptomic profiling reveals a link between the PI3K pathway and lower estrogen-receptor (ER) levels and activity in ER+ breast cancer. *Breast Cancer Res.* 12(3): R40.
49. Levin ER, Pietras RJ. 2008. Estrogen receptors outside the nucleus in breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 108:351–61.
50. Santen RJ, Fan P, Zhang Z, et al. 2009. Estrogen signals via an extranuclear pathway involving IGF-1R and EGFR in tamoxifen-sensitive and -resistant breast cancer cells. *Steroids* 74:586–94.
51. Wu RC, Qin J, Yi P, et al. 2004. Selective phosphorylations of the SRC-3/AIB1 coactivator integrate genomic responses to multiple cellular signaling pathways. *Mol. Cell* 15:937–49.
52. Lee H, Bai W. 2002. Regulation of estrogen receptor nuclear export by ligand-induced and p38-mediated receptor phosphorylation. *Mol. Cell Biol.* 22:5835–45.
53. Pontiggia O, Rodriguez V, Fabris V, et al. 2009. Establishment of an in vitro estrogen-dependent mouse mammary tumor model: a new tool to understand estrogen responsiveness and development of tamoxifen resistance in the context of stromal-epithelial interactions. *Breast Cancer Res. Treat.* 116:247–55.
54. M. Dowsett, I. E. Smith, S. R. Ebbs et al., “Proliferation and apoptosis as markers of benefit in neoadjuvant endocrine therapy of breast cancer,” *Clinical Cancer Research*, vol. 12, no.3, part 2, pp. 1024s-1030s, 2006.
55. S. F. Doisneau-Sixou, C. M. Sergio, J. S. Carroll, R. Hui, E. A. Musgrove, and R. L. Sutherland, “Estrogen and antiestrogen regulation of cell cycle progression in breast cancer cells,” *Endocrine-Related Cancer*, vol. 10, no. 2, pp. 179–186, 2003.
56. P. Schick, J. Goodstein, J. Moor, J. Butler, and K. L. Senter, “Preoperative chemotherapy followed by mastectomy for locally advanced breast cancer,” *Journal of Surgical Oncology*, vol. 22, no. 4, pp. 278–282, 1983.
57. M. Kaufmann, G. N. Hortobagyi, and A. Goldhirsch, “Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update,” *Journal of Clinical Oncology*, vol. 24, no. 19, p. 3221, 2006.
58. A. K. Shiau, D. Barstad, P. M. Loria et al., “The structural basis of estrogen receptor/coactivator recognition and the antagonism of this interaction by tamoxifen” *Cell*, vol. 95, no. 7, pp. 927–937, 1998.
59. C. M. Klinge, S. C. Jernigan, S. L. Smith, V. V. Tyulmenkov, and P. C. Kulakosky, “Estrogen response element sequence impacts the conformation and transcriptional activity of estrogen receptor,” *Molecular and Cellular Endocrinology*, vol. 174, no. 1–2, pp. 151–166, 2001.
60. X. Long and K. P. Nephew, “Fulvestrant (ICI 182,780)-dependent interacting proteins mediate immobilization and degradation of estrogen receptor” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 281, no. 14, pp. 9607–9615, 2006.
61. A. Howell, J. F. R. Robertson, P. Abram et al., “Comparison of fulvestrant versus tamoxifen for the treatment of advanced

- breast cancer in postmenopausal women previously untreated with endocrine therapy: a multinational, double-blind, randomized trial," *Journal of Clinical Oncology*, vol. 22, no. 9, pp. 1605–1613, 2004.
62. A. U. Buzdar, "Fulvestrant – a novel estrogen receptor antagonist for the treatment of advanced breast cancer," *Drugs of Today*, vol. 44, no. 9, pp. 679–692, 2008.
 63. W. R. Miller, A. Larionov, L. Renshaw et al., "Gene expression profiles differentiating between breast cancers clinically responsive or resistant to letrozole," *Journal of Clinical Oncology*, vol. 27, no. 9, pp. 1382–1387, 2009.
 64. A. Howell and M. Dowsett, "Endocrinology and hormone therapy in breast cancer: aromatase inhibitors versus antioestrogens," *Breast Cancer Research*, vol. 6, no. 6, pp. 269–274, 2004.
 65. W. R. Miller and J. Jackson, "The therapeutic potential of aromatase inhibitors," *Expert Opinion on Investigational Drugs*, vol. 12, no. 3, pp. 337–351, 2003.
 66. R. Bartsch, Z. Bago-Horvath, A. Berghoff et al., "Ovarian function suppression and fulvestrant as endocrine therapy in premenopausal women with metastatic breast cancer," *European Journal of Cancer*, vol. 48, no. 13, pp. 1932–1938, 2012.
 67. Encarnacion CA, Ciocca DR, McGuire WL, et al. 1993. Measurement of steroid hormone receptors in breast cancer patients on tamoxifen. *Breast Cancer Res. Treat.* 26: 237–46.
 68. Gutierrez MC, Detre S, Johnston S, et al. 2005. Molecular changes in tamoxifen-resistant breast cancer: relationship between estrogen receptor, HER-2, and p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Clin. Oncol.* 23: 2469–76.
 69. Hull DF 3rd, Clark GM, Osborne CK, et al. 1983. Multiple estrogen receptor assays in human breast cancer. *Cancer Res.* 43: 413–16.
 70. Lipton A, Leitzel K, Ali SM, et al. 2005. Serum HER-2/neu conversion to positive at the time of disease progression in patients with breast carcinoma on hormone therapy. *Cancer* 104: 257–63.
 71. Meng S, Tripathy D, Shete S, et al. 2004. HER-2 gene amplification can be acquired as breast cancer progresses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 9393–98.
 72. Arpino G, Green SJ, Allred DC, et al. 2004. HER-2 amplification, HER-1 expression, and tamoxifen response in estrogen receptor-positive metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group study. *Clin. Cancer Res.* 10: 5670–76.
 73. Brankovic-Magic M, Jankovic R, Neskovic-Konstantinovic Z, et al. 2002. Progesterone receptor status of breast cancer metastases. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128:55–60.
 74. Gross GE, Clark GM, Chamness GC, et al. 1984. Multiple progesterone receptor assays in human breast cancer. *Cancer Res.* 44:836–40.
 75. Dodwell D, Wardley A, Johnston S. 2006. Postmenopausal advanced breast cancer: options for therapy after tamoxifen and aromatase inhibitors. *Breast* 15: 584–94.
 76. Robertson JF, Osborne CK, Howell A, et al. 2003. Fulvestrant versus anastrozole for the treatment of advanced breast carcinoma in postmenopausal women: a prospective combined analysis of two multicenter trials. *Cancer* 98: 229–38.
 77. Milani A, Geuna E, Mittica G, Valabrega G. Overcoming endocrine resistance in metastatic breast cancer: Current evidence and future directions. *World J Clin Oncol.* 2014 Dec 10; 5(5): 990–1001. doi: 10.5306/wjco.v5.i5.990.
 78. Salvatori L, Pallante P, Ravenna L, Chinzari P, Frati L, Russo MA, Petrangeli E. Oestrogens and selective oestrogen receptor (ER) modulators regulate EGF receptor gene expression through human ER alpha and beta subtypes via an Sp1 site. *Oncogene.* 2003; 22: 4875–4881.
 79. Gutierrez MC, Detre S, Johnston S, Mohsin SK, Shou J, Allred DC, Schiff R, Osborne CK, Dowsett M. Molecular changes in tamoxifen-resistant breast cancer: relationship between estrogen receptor, HER-2, and p38 mitogen-activated protein kinase. *J Clin Oncol.* 2005; 23: 2469–2476.
 80. Musgrove EA, Sutherland RL. Biological determinants of endocrine resistance in breast cancer. *Nat Rev Cancer.* 2009; 9: 631–643.
 81. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell.* 2012; 149: 274–293.
 82. Miller TW, Rexer BN, Garrett JT, Arteaga CL. Mutations in the phosphatidylinositol 3-kinase pathway: role in tumor progression and therapeutic implications in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2011; 13:224.
 83. Dillon RL, White DE, Muller WJ. The phosphatidylinositol 3-kinase signaling network: implications for human breast cancer. *Oncogene.* 2007; 26: 1338–1345.
 84. deGraffenried LA, Friedrichs WE, Russell DH, Donzis EJ, Middleton AK, Silva JM, Roth RA, Hidalgo M. Inhibition of mTOR activity restores tamoxifen response in breast cancer cells with aberrant Akt Activity. *Clin Cancer Res.* 2004; 10: 8059–8067.

85. Toy W, Shen Y, Won H, Green B, Sakr RA, Will M, Li Z, Gala K, Fanning S, King TA, et al. ESR1 ligand-binding domain mutations in hormone-resistant breast cancer. *Nat Genet.* 2013; 45: 1439–1445.
86. Di Leo A, Jerusalem G, Petruzelka L, et al: Results of the CONFIRM phase III trial comparing fulvestrant 250 mg with fulvestrant 500 mg in postmenopausal women with estrogen receptor-positive advanced breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 2010 V.28 № 30 p.4595–4601; *Journal of the National Cancer Institute* V. 106 (1): c. 337.
87. Leo A Di, Jerusalem G, Petruzelka L, et al: Final Overall Survival: Fulvestrant 500 mg vs 250 mg in the Randomized CONFIRM Trial. *Journal of the National Cancer Institute* V. 106(1): p. 337.
88. Baselga J, Campone M, Piccart M, Burris HA 3rd, Rugo HS, Sahmoud T, Noguchi S, Gnant M, Pritchard KI, Lebrun F, Beck JT, Ito Y, Yardley D, Deleu I, Perez A, Bachelot T, Vittori L, Xu Z, Mukhopadhyay P, Lebwohl D, Hortobagyi GN. Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med.* 2012 Feb 9; 366(6): 520–9.
89. Kaufman B, Mackey JR, Clemens MR, Bapsy PP, Vaid A, Wardley A, Tjulandin S, Jahn M, Lehle M, Feyereislova A, Révil C, Jones A. Trastuzumab plus anastrozole versus anastrozole alone for the treatment of postmenopausal women with human epidermal growth factor receptor 2-positive, hormone receptor-positive metastatic breast cancer: results from the randomized phase III TAnDEM study. *J Clin Oncol.* 2009 Nov 20; 27 (33): 5529–37.
90. Johnston S, Pippin J Jr, Pivot X, Lichinitser M, Sadeghi S, Dieras V, Gomez HL, Romieu G, Manikhas A, Kennedy MJ, Press MF, Maltzman J, Florance A, O'Rourke L, Oliva C, Stein S, Pegram M. Lapatinib combined with letrozole versus letrozole and placebo as first-line therapy for postmenopausal hormone receptor-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009 Nov 20; 27 (33): 5538–46.
91. Schwartzberg LS, Franco SX, Florance A, O'Rourke L, Maltzman J, Johnston S. Lapatinib plus letrozole as first-line therapy for HER-2+ hormone receptor-positive metastatic breast cancer. *Oncologist.* 2010; 15 (2): 122–9.