

MECHANIZMY REZISTENCE NA TAMOXIFEN MECHANISMS OF TAMOXIFEN RESISTANCE

**PETRÁKOVÁ K., NENUTIL R., GRELL P., SVOBODA M., FABIÁN P., PALÁCOVÁ M., VYZULA R.
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO**

Souhrn

Hormonální léčba je nejúčinnější systémovou léčbou karcinomu prsu pro pacientky s pozitivními steroidními receptory. Nejpoužívanější hormonální léčbou v dnešní době je nadále tamoxifen. Jeho účinnost je však často limitovaná rezistencí nádorových buněk. Poznatky o intracelulárních signálních drahách získané v posledních letech vysvětlují některé možné mechanismy vzniku rezistence. Patří k nim ztráta exprese nebo funkce estrogenového receptoru (ER) nebo progesteronového receptoru (PR), změny koregulačních proteinů ER, interference signálních drah receptorů růstových faktorů a ER, mutace nádorového supresoru p53, signální dráha PIK3 a změna farmakokinetiky tamoxifenu.

Klíčová slova: rezistence na tamoxifen; estrogenový receptor; progesteronový receptor; geny, HER2; geny, p53

Summary

Endocrine therapy is the most effective systematic treatment for patients with hormone-receptor positive breast cancer. Tamoxifen still represents the most commonly used endocrine treatment. Efficacy of tamoxifen may be often limited by the onset of resistance. Knowledge on intracellular signal transduction pathways gained in the last years may explain possible mechanisms of tamoxifen resistance. These mechanisms may include loss of expression and/or function of estrogen receptor (ER) or progesterone receptor (PR), alterations in co-regulatory proteins of ER, interferences in signal transduction pathways of growth factor receptors and ER, mutations in tumor suppressor gene p53, the signal transduction pathway PIK3 and alterations in pharmacokinetics of tamoxifen.

Key words: tamoxifen; drug resistance; estrogen receptors; progesterone receptors; Genes, HER2; Genes, p53

Úvod:

Karcinom prsu je nejčastější zhoubný nádor žen v České republice. Tvoří zhruba 1/4 všech zhoubných nádorů a postihuje 6% ženské populace. Incidence má stoupající tendenci, mortalita v posledních několika letech stagnuje. V roce 2003 bylo hlášeno celkem 5784 nových případů zhoubného nádoru prsu a celkem 2032 žen zemřelo v důsledku tohoto onemocnění. (ÚZIS nebo SVOD) Přibližně 70% karcinomů prsu exprimuje v době diagnózy estrogenové (ER) a/nebo progesteronové (PR) receptory (dál jenom: pozitivní estrogenové receptory), které jsou dnes nejdůležitějším a jediným standardně vyšetřovaným prediktivním faktorem pro hormonální léčbu. Výsledky klinických studií opakovaně potvrdily přínos adjuvantní léčby tamoxifenem proti placebo. 5-letá adjuvantní léčba tamoxifenem snižuje mortalitu o 28% a riziko kontralaterálního karcinomu prsu o 50% u žen s pozitivními estrogenovými receptory (1). Dosud je proto tamoxifen nejpoužívanější hormonální léčbou a je i součástí všech doporučených léčebných postupů pro adjuvantní léčbu karcinomu prsu, a to v souladu se závěry skupiny expertů NIH a konference v St. Gallen 2005 (2). Má však své omezení. Podle některých publikací pozorovalo nežádoucí účinky při léčbě tamoxifenem až 63% pacientek. K nejčastějším nežádoucím účinkům dlouhodobé léčby tamoxifenem patří návaly, vaginální krvácení, endometriální karcinom, nutnost hysterektomie, ischemické cerebrovaskulární příhody a venózní tromboembolie (3).

V současnosti však začínají tamoxifen v adjuvantní léčbě nahrazovat inhibitory aromatázy třetí generace, ke kterým patří anastrozol, letrozol a exemestan. Máme k dispozici výsledky několika randomizovaných studií třetí fáze, které srovnávají přínos adjuvantní léčby tamoxifenem u postmenopauzálních žen proti léčbě inhibitory aromatázy. Ve všech studiích byl prokázán přínos léčby inhibitorem aromatázy a to v iniciační léčbě, v sekvenční léčbě i v prodloužené adjuvanci. Studie ATAC a BIG 1-98 srovnává iniciační léčbu tamoxifenem proti iniciační léčbě inhibitorem aromatázy v době trvání pěti let. Pacientky léčené anastrozolem ve studii ATAC měly v době sledování 68 měsíců o 14 % nižší riziko vzdálené rekurence nemoci a o 42% nižší riziko kontralaterálního karcinomu prsu ($p=0.04$ a $p=0.01$) (4). Pacientky léčené letrozolem ve studii BIG 1-98 měly v době sledování 26 měsíců o 19% nižší riziko rekurence a o 27% nižší riziko vzdálené rekurence onemocnění ($p=0.003$ a $p=0.001$) (5). Navíc měly pacientky léčené inhibitorem aromatázy v obou studiích méně nežádoucích účinků než pacientky léčené tamoxifenem. Dvě menší klinické studie třetí fáze Italian Tamoxifen Anastrozole (ITA) a Arimidex Nolvadex 95/Austrian Breast Cancer Study Group 8 (ARNO 95/ABCSG 8) prokázaly přínos sekvenční léčby inhibitorem aromatázy po dvou až třech letech léčby tamoxifenem v prodloužení doby bez návratu nemoci (6,7). Nedávno publikované výsledky studie ARNO 95 potvrdili přínos sekvenční léčby anastrozolem. Pacientky léčené sekvenčně tamoxifenem a anastrozolem měly o 47% lepší celkové

přežívání ($p=0.045$) (8). Největší a asi nejlépe navrženou studií srovnávající sekvenční podání exemestanu po dvou až třech letech léčby tamoxifenem proti tamoxifenu samotnému je studie Intergroup Exemestane Study (IES). V době sledování 55,7 měsíců měly pacientky léčené exemestanem o 24% menší riziko recurence nemoci ($p=0,00005$), o 34% menší riziko vzdálené recurence ($p=0,0001$) (9). Karcinomy s pozitivními estrogenními receptory relabují později než karcinomy s negativními steroidními receptory nezávisle od postižení axilárních uzlin. Podle Hortobagyiho je riziko relapsů u nádorů druhého stadia 13% po dobu 10 let a 21% po dobu 15 let (10). Lze tím vysvětlit i příznivé výsledky studie MA 17, která prokázala přínos prodloužené adjuvantní léčby inhibitory aromatázy u pacientek s pozitivními estrogenovými receptory po pětileté adjuvantní léčbě tamoxifenem. V době sledování 30 měsíců měly pacientky léčené letrozolem o 42% menší riziko recurence nemoci než pacientky léčené placebem ($p<0.001$) a o 40% menší riziko vzdálené recurence ($p=0,002$) (11).

Na základě výsledků uvedených studií se na odborných sympoziích vedou diskuse o změně dosavadních léčebných postupů u karcinomu prsu a změně adjuvantní hormonální léčby u postmenopauzálních pacientek z dosud standardního tamoxifenu na inhibitor aromatázy. Je však otázkou, jestli všechny postmenopauzální pacientky s karcinomem prsu mají být léčeny v adjuvanci inhibitory aromatázy, anebo je možné identifikovat pacientky, které z důvodu existence primární nebo sekundární rezistence nebudou mít prospěch z léčby tamoxifenem.

Z klinického a biologického pohledu se dá rozlišit několik typů rezistence: a) nádory, které jsou rezistentní na jakoukoliv hormonální léčbu i když exprimují estrogenové receptory (primární panendokrinní rezistence); b) nádory, které jsou estrogen-dependentní, ale jsou rezistentní na jeden nebo více typů hormonální léčby (primární selektivní rezistence); c) nádory které nejdříve odpoví na hormonální léčbu, časem se však stanou rezistentní (získaná sekundární rezistence) (54). Problémem zůstává hlavně adjuvantní hormonální léčba, které účinnost lze měřit až s odstupem delšího času. Pokud by se podařilo pochopit molekulární podstatu tohoto fenoménu, bylo by možné pacientky léčit účinnou endokrinní léčbou a zlepšit tak léčebné výsledky.

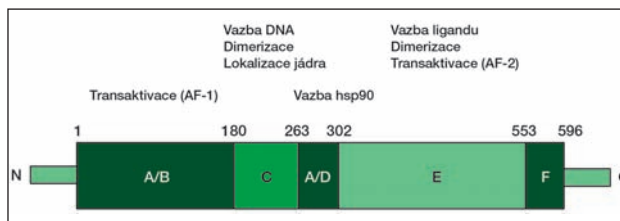
V článku se autoři snaží shrnout současné poznatky o mechanismech rezistence na endokrinní léčbu, které by mohly mít dopad na výběr adjuvantní hormonální léčby.

Estrogenový receptor – mechanismus účinku

V současné době známe dva druhy estrogenových receptorů (ER): ER α a ER β (12). I když je receptor ER β exprimován nádorovými buňkami karcinomu prsu, nebyla jeho funkce v normální i nádorové tkáni dosud přesně definována. Naopak, receptor ER α je detailně prostudován a slouží jako prediktivní marker pro hormonální léčbu. Patří do skupiny nukleárních receptorů aktivovaných ligandy. Po vstupu do buňky se estrogen naváže na ER, ten se oddělí od heat-shock proteinů, na které je vázán, prostorově se změní, fosforyluje a dimerizuje. Následně se naváže na

úseky genů, které v oblasti svých promotorů obsahují úsek závislý na estrogenu (ERE-estrogen response element). Tím dochází k transkripci genů. Tento způsob přepisu se označuje jako klasický.

Komplex estradiolu a ER může regulovat expresi genů i bez přímé interakce s DNA cestou jiných transkripčních faktorů jako je komplex aktivovaného proteinu Fos/Jun a AP-1. Tento způsob přepisu je označován za neklasický (13).



Obrázek č.1: Názorná struktura receptoru ER

ER se skládá z několika funkčních domén (obrázek č.1). Doména A/B má vnitřní schopnost aktivovat transkripci. Tato funkce je označovaná jako AF-1 (aktivační funkce 1). Je to aktivita, které je nezávislá na vazbě estrogenů nebo antiestrogenů (14). Pro plnou aktivaci AF-1 in vitro je nutná fosforylace serinu (Ser) na pozici 118 v ER, která je možná i cestou Ras/MAPK (mitogen-activated protein kinase) kaskády signální dráhy pro růstový faktor. Aktivací této cesty může tedy dojít k zvýšení exprese genů regulovaných ER, které jsou závislé na AF-1 i v nepřítomnosti estrogenů nebo antiestrogenů (15). Doména C je důležitá při lokalizaci jádra, dimerizaci receptorů a vazbu heat-shock proteinů. Doména D slouží k oddělení domény C a E. Doména E je důležitá pro vazbu přirozeného ligandu ER estradiolu (HBD - hormone binding domaine). Kromě toho je hlavní oblastí dimerizace receptorů a aktivace transkripce závislé na ligandech (ligand binding domain). Tato funkce je označována jako AF-2 (aktivační funkce 2). AF-1 a AF-2 působí ve většině buněk synergicky. U některých genů však mohou být aktivovány nezávisle na sobě (16). Jejich funkce však může být dále modulována přítomností koregulačních proteinů. Byly popsány jak koaktivátory, které zesilují transkripci, tak korepresory, které ji tlumí.

Koaktivátory jsou skupina proteinů, které stimulují aktivitu ER cestou funkce AF-2. K nejdůležitějším patří koaktivátor nukleárního receptoru 1 (NCoA1, známý i jako SRC1-steroid receptor coactivator), NCoA2 a NCoA3 (AIB1) (17). Byly popsány i dva korepresory: NCoR1 (nuclear receptor co-repressor 1) a NCoR2 (rovněž pod názvem SMRT-silencing mediator of retinoic acid). Je nutné se zmínit, že i cyclin D1, protein, který reguluje buněčný cyklus, se může chovat jako koaktivátor a může aktivovat transkripci zprostředkovanou cestou ER.

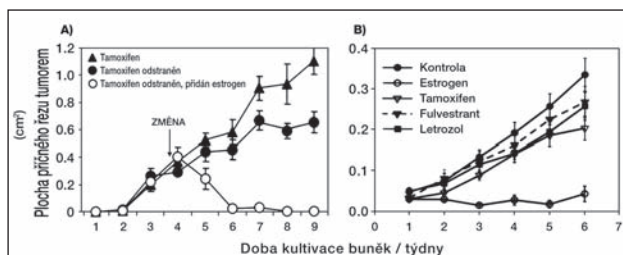
Agonistický a antagonistický profil účinku látek typu SERM (selective ER modulators), mezi které patří i tamoxifen, je částečně způsoben aktuální hladinou koaktivátorů a korepresorů v jednotlivých buňkách. Navíc se na něm může podílet i přítomnost nebo nepřítomnost úseků závislých na estrogenech (ERE) v promotorech jednotlivých genů.

Mechanismy rezistence

Ztráta exprese nebo funkce ER

Efekt tamoxifenu je primárně zprostředkován cestou ER a stupeň exprese ER je silným prediktorem odpovědi na tamoxifen. Ztráta exprese ER může vést ke ztrátě účinnosti tamoxifenu a patří k dominantním mechanismům de novo rezistence na tamoxifen. Nádory, které neexprimují ER ani PR (progesteronové receptory) neodpovídají ani na antiestrogenní léčbu (18). Ke ztrátě exprese ER však nedochází u všech patientek léčených tamoxifenem, které zpočátku odpovíděly na léčbu a u kterých postupně vznikla rezistence na tamoxifen (19). Část patientek dokonce i v době progresu při léčbě tamoxifenem exprimuje ER. Asi 20% těchto patientek odpoví na jinou hormonální léčbu jako je např. inhibitor aromatázy nebo fulvestrant (20).

Častou příčinou změny funkce receptoru bývá i jeho mutace. Mutace ER, která porušuje vazbu antiestrogenu na receptor, byla detekována v některých rezistentních liniích nádorových kultur. U pacientů se však tato mutace dá prokázat zřídka (21). Kromě samotné exprese ER může být prediktorem odpovědi na hormonoterapii i stav jeho fosforylace zejména na Ser167.



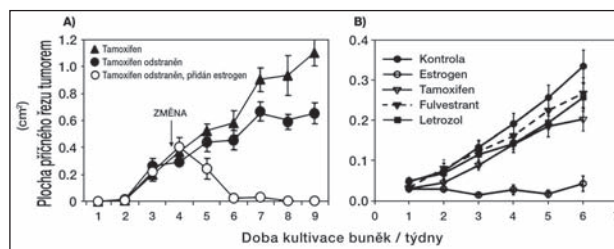
Obrázek č.2: Schématické znázornění vzniku rezistence k tamoxifenu během léčby.

Změna farmakokinetiky tamoxifenu

Snížená resorpce, změny biotransformace nebo urychlené vylučování, patří k dalším mechanismům vzniku rezistence na tamoxifen. Johnston a spolupracovníci měřili u 51 patientek s karcinomem prsu s de novo rezistencí a získanou rezistencí k tamoxifenu hladinu tamoxifenu v séru a v nádoru. Zatím co sérové koncentrace se mezi jednotlivými patientkami výrazně nelišily, signifikantní rozdíly byly naměřeny v koncentraci tamoxifenu v nádorech u patientek se získanou rezistencí (nižší koncentrace) ve srovnání s patientkami s rezistencí vzniklou de novo. Lze tedy předpokládat, že získaná rezistence může být spojena s nižšími hladinami tamoxifenu v nádoru při jeho normálních hladinách v séru. Jednou z příčin tohoto stavu může být zvýšená exprese P-glykoproteinu, membránové pumpy, způsobující eflux řady cytostatických léčiv (22).

Po vstupu do buňky je tamoxifen biotransformován na N-desmethyltamoxifen, který je hlavním metabolitem detekovatelným v krvi, a na 4-hydroxytamoxifen. Nově byl identifikován další aktivní metabolit tamoxifenu 4-hydroxy-N-desmethyltamoxifen, který má i vyšší afinitu k ER. Jeho vznik je závislý na funkci cytochromu CYP2D6, která však může být ovlivněna řadou běžně používaných léčiv. To dokazuje i práce, kterou se svými spolupracovníky publikoval Stearns. Autoři zjistili, že patientky léčené současně tamoxifenem a paroxetinem (lék ze skupiny SSRI užívaný

ke zmírnění menopauzálních symptomů) měly signifikantně nižší sérovou hladinu 4-hydroxy-N-desmethyltamoxifenu, ve srovnání s kontrolní skupinou patientek bez paroxetinu. Z jejich závěru lze postavit hypotézu, že paroxetin může snižovat efekt tamoxifenu (23).



Obrázek č.3A):

Na grafu je znázorněn dramatický efekt nízkých, fyziologických hladin estrogenu ve fázi II rezistence k tamoxifenu. Nádorové buňky MCF7, které byly kultivovány s tamoxifenem 5 let, jsou stimulovány k růstu samotným tamoxifenem. Pokud budou buňky dále kultivovány bez tamoxifenu, dochází k zastavení jejich růstu. Po přidání fyziologických hladin estrogenu dochází k dramatické regresi nádoru.

Obrázek č.3B):

Graf znázorňuje nádorové buňky MCF7s pozitivními ER v III.fázi rezistence, jejichž růst a autonomní a které nereagují na žádnou léčbu namířenou proti ER. Pouze fyziologické hladiny estrogenu mohou zastavit růst nádoru.

Změny koregulačních proteinů ER

AIB1 (SRC-3) je koaktivátor ER, nezbytný k výkonu jeho transkripční funkce. Vysoká exprese a aktivita AIB1 však může znamenat snížení antagonistického působení tamoxifenu na ER. Anzick a kol. prokázali amplifikaci a nadměrnou expresi AIB1 ve čtyřech z pěti testovaných nádorových linií karcinomu prsu, přičemž pro růst některých z nich byla esenciální (např. pro MCF-7). V případech primárních tumorů autoři detekovali jeho zvýšenou expresi u více než 60% ze 105 testovaných nádorů (24). Jednou z cest, kterou může docházet k aktivaci AIB1, je jeho fosforylace prostřednictvím signální dráhy HER-2 receptoru. Právě Osborne a spolupracovníci se snažili zjistit jaký je vztah mezi účinností tamoxifenu a expresí AIB1 a HER-2 receptoru. Ve své práci analyzovali soubor 316 karcinomů prsu od patientek, u kterých byl v adjuvanci zvolen jeden ze tří přístupů: a) adjuvantní léčba tamoxifenem, b) adjuvantní chemoterapie následovaná tamoxifenem, c) bez adjuvantní léčby. Medián přežití patientek v době analýzy souboru činil 95 měsíců. Ve srovnání s kontrolní skupinou dosahovaly patientky s vysokou hladinou AIB1 delšího DFS pouze v případě, když nebyly léčené tamoxifenem, ($p=0,018$). V opačné situaci měla nadměrná exprese AIB1 negativní prognostický význam ($p=0,049$). Nejhorší prognózu měly patientky léčené tamoxifenem, jejichž karcinomy nadměrně exprimovaly kofaktor AIB1 i HER-2 receptor ($p=0,004$) (16).

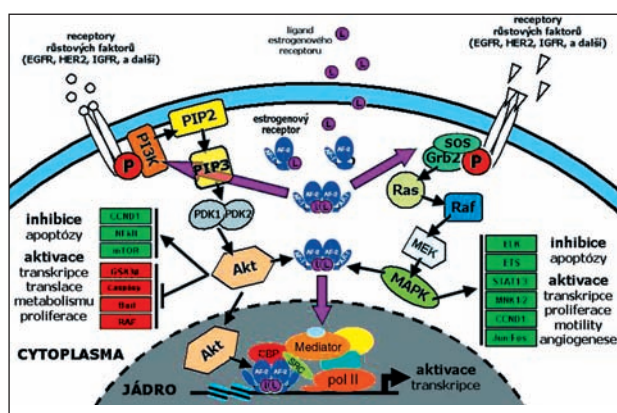
I v případě dalších koaktivátorů ER, jako např. SRC-1, potencuje jejich overexprese transkripční aktivitu ER, čímž posiluje agonistický efekt jeho ligandů (estrogenu i 4-hydroxytamoxifenu) (25). Negativní prediktivní i prognostický význam SRC-1 byl prokázán i na primárních nádorech karcinomu prsu (26).

V případě korepresorů (např. N-CoR, SMRT) je jejich význam pro realizaci agonistického efektu tamoxifenu opačný. Lavinsky a spolupracovníci prokázali na modelu

imunodeficientních myši, kterým byly injektovány buňky MCF7 nádorové linie karcinomu prsu, že pokles hladiny N-CoR koreloval se vznikem rezistence k tamoxifenu (27). Rovněž Keeton a kol. potvrdili toto zjištění a dále rozvedli jeho podstatu, když ve svých preklinických experimentech zjistili, že v případě potlačení exprese N-CoR a SMRT dochází u nádorových buněk kultivovaných s tamoxifenem ke stimulaci jejich buněčného cyklu, aniž by docházelo k aktivaci genů podléhajících transkripční aktivitě ER, zodpovědných za jeho propoliferační funkci (např. c-myc a CCND1) (28).

Interference signálních drah receptorů růstových faktorů a ER

Nejvíce pozornosti ve výzkumu tamoxifenové rezistence je věnováno cestám vzájemné komunikace mezi receptory pro růstové faktory a ER (obrázek č. 4).



Obrázek č.4: Schématické znázornění interference signálních drah pro růstové faktory.

Benz a spolupracovníci prokázali, že nádorové buňky karcinomu prsu MCF7, které exprimují vyšší hladiny proteinu HER-2, jsou rezistentní na léčbu tamoxifenem, ale citlivé na snížení hladin estrogenů (29). Děje se tak na základě aktivace ER prostřednictvím signálních drah receptorů růstových faktorů (např. EGFR, HER-2, IGF1R a další), které mohou fosforylovat AF-1 doménu ER. Tato fosforylace může proběhnout jak cestou Ras/MEK/MAPK kinázové signální dráhy, tak i cestou PI3K/Akt kinázové signální dráhy (15).

Tímto způsobem, nezávisle na ligandu, dochází k downregulaci a ke zvýšení vnímavosti ER na nižší dávky estrogenů, ke stimulaci jeho transkripční aktivity. Řada experimentů prokázala, že inhibice signální dráhy HER-2 a/nebo EGFR monoklonální protilátkou nebo selektivním inhibitorem tyrosin kinázové aktivity jejich domén, může zvrátit rezistenci vůči tamoxifenu (30, 31). Stejněho efektu lze dosáhnout inhibicí dalších komponent uvedených signálních drah (např. PI3K, Akt, MEK a MAPK kinázy) (31).

V preklinických modelech vede dlouhodobá expozice nádorových buněk s tamoxifenem, nebo deprivace estrogenů z jejich kultivačního prostředí, k up-regulaci HER-2 receptoru. Toto sledování potvrzuje, že uvedený adaptační mechanismus může být příčinou vzniku sekundární rezistence (32).

Je důležité, aby předpoklady, ke kterým dospěly preklinické studie, byly potvrzeny i v klinické praxi. Za tímto účelem již byly provedeny retrospektivní analýzy jak v případě adjuvantního podávání tamoxifenu, tak i jeho aplikace u metastatického onemocnění. Několik adjuvantních studií předpokládá, že pacientky s overexpresí HER-2 mohou mít relativně menší prospěch z adjuvantní léčby tamoxifenem (33, 34). Studie však mají svá slabá místa. Jedná se jednak o retrospektivní studie s malým počtem pacientů, které někdy používají nekonzistentní metody ke stanovení HER-2. De Laurentiis a spolupracovníci publikovali v roce 2005 výsledky metaanalýzy klinických studií s hormonální léčbou metastatického onemocnění karcinomu prsu, ve které hodnotili klinickou odpověď v závislosti na expresi HER-2. Hodnoceno bylo celkem 12 klinických studií. Ve většině studií byl podáván tamoxifen jako první linie pro metastatické onemocnění. Metaanalýza prokázala horší klinickou odpověď pacientek s metastatickým onemocněním a overexpresí HER-2 na hormonální léčbu. Relativní riziko pouze pro pacientky léčené tamoxifenem bylo 1.33 (95% CI, 1.20-1.48; $p < 0.00001$) (35).

Pro hledání prediktivních markerů k odpovědi na určitý léčebný postup se jeví být optimální neoadjuvantní studie. Efekt léčby je měřen přímo a sledované markery mohou být stanoveny podle požadovaných parametrů. V klinické studii vedené Ellisem bylo celkem 324 postmenopauzálních žen, jejichž nádory exprimovaly ER a/nebo PR, léčeno buď letrozolem nebo tamoxifenem v neoadjuvantním podání. U pacientek s pozitivitou ER a současně overexpresí EGFR a /anebo HER-2, které byly léčené tamoxifenem bylo dosaženo celkem 21% léčebných odpovědí a 42% léčebných odpovědí u pacientek bez overexprese HER-2 a /anebo EGFR. Rozdíl nebyl statisticky signifikantní ($p = 0.095$), ale u pacientek s pozitivitou ER a /anebo PR a současně overexpresí HER-2 a /anebo EGFR bylo dosaženo signifikantně více léčebných odpovědí pomocí letrozolu (88% vs 21%, $p = 0.0004$). Na rozdíl od toho nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl v odpovědi mezi letrozolem a tamoxifenem u pacientek s pozitivitou ER bez overexprese HER-2 a /anebo EGFR (54% vs 42%, $p = 0.078$) (36).

Ve studii IMPACT bylo celkem 330 postmenopauzálních pacientek léčeno neoadjuvantně anastrozolem, tamoxifenem nebo kombinací (37). Léčebná odpověď anastrozolu byla 58% a tamoxifenu 22% ($p = 0.09$). Rozdíl nebyl signifikantní, ale pacientky s overexpresí HER-2 měly větší benefit z anastrozolu než tamoxifenu.

Newby a spolupracovníci se snažili odpovědět na otázku, zda nově vzniklá overexprese HER-2 znamená rezistenci na tamoxifen. U 61 pacientek, které zrelabovaly při léčbě tamoxifenem srovnali vzorky nádoru před léčbou tamoxifenem a v době relapsu. Autoři nezaznamenali signifikantní vzestup exprese HER-2 (38). Jiná studie však hypotézu vzestupu exprese HER-2 při objevení se rezistence na tamoxifen podpořila. Gutierrez a spolupracovníci srovnávali 39 vzorků pacientek, které byly odebrány před nasazením tamoxifenu a v době recidivy. U pacientek, které měly overexpresi HER 2 i před nasazením tamoxifenu, se fenotyp v době relapsu neměnil. U pacientek s negativním

HER-2 se v době relapsu objevila jeho overexprese (19). Vzhledem k rozporuplným výsledkům studií nebyla tedy prokázána jednoznačná korelace mezi vzestupem exprese HER-2 a vznikem rezistence na tamoxifen. Nově se však objevily zprávy o důležitosti kofaktoru AIB1, jehož vysoké hladiny mohou redukovat antagonistický efekt tamoxifenu. Je tedy pravděpodobné, že u nádorů s overexpresí HER2 může být AIB1 aktivovaný kaskádou signální dráhy pro HER-2 a tím může dojít k zvýšení agonistické aktivity tamoxifenu a následně redukci jeho protinádorového účinku. V této souvislosti by tedy hladiny AIB1 mohly zvyšovat prediktivní hodnotu HER-2 (16).

Mutace nádorového supresoru p53

Předpokládaným mechanismem podpory tamoxifenové rezistence mutací p53 je zejména „gain of function“, tedy onkogenní účinek některých mutovaných forem p53, projevující se zejména zvýšením exprese EGFR, IGFR, myc a VEGF. Uplatnit se může i pozorované zvýšení exprese MDR-1 (multidrug resistance) genu, případně blokovaní apoptózy (39). Mutace p53 je ovšem u karcinomu prsu obecně negativním prognostickým parametrem, je sdružena s agresivnějšími nádory a častější negativitou ER. Selektivní vyhodnocení jejího významu jako prediktoru rezistence na tamoxifen je proto obtížné a je zatíženo četnými metodickými problémy jak ve výběru skupin pacientek, tak ve vlastním stanovení mutace (imunohistologie oproti sekvenování, sekvenování celého genu oproti sekvenování omezenému na DNA vazebnou doménu). Data jsou dosud rozporná, ale v metodicky poměrně konzistentní práci, užívající sekvenování celého genu ukázal Berns, že pacientky s pozitivním estrogenovým receptorem a mutací p53 prakticky neprofitovaly z terapie tamoxifenem a měly horší celkové přežívání, zejména při vyšší hladině VEGF v nádoru (40). Nádory s genovou expresí charakterizovanou jako „p53 signatura“ rovněž vykazovaly špatnou odpověď na tamoxifen podle výsledků Millera a spol., přičemž tato „signatura“ byla silnějším prediktorem než samotný status genu a je zjevné že ne všechny mutace p53 mají shodný efekt (41).

Signální dráha PIK3

Další signální dráha, která může ovlivňovat aktivitu ER, je signální dráha PIK3 (phosphatidyl-inositol-3-OH kinase). Jednou z komponent signální dráhy PI3K je serin/threonin protein kináza AKT, aktivace které má proliferální a antiapoptotický účinek. Studie in vitro předpokládají, že ER α se může vázat s p85a, která je regulační podjednotkou PI3K, což vede k aktivaci dráhy AKT (42). AKT může být cílem signálních drah i pro jiné receptory, jako IGF-1R, EGFR a HER-2. Vzájemný vztah ER a PIK3 je reciproční a tak PI3K aktivuje AKT, která fosforyluje ER a způsobuje jeho aktivaci (43). Tato hypotéza byla ověřena i v preklinických studiích. Clark a spolupracovníci měřili apoptózu indukovanou tamoxifenem v různých buněčných kulturách, a to bez a po přidání LY294002, což je inhibitor signální dráhy PIK3. Přidáním inhibitoru signální dráhy PIK3 se signifikantně zvýšil proapoptotický efekt tamoxifenu, hlavně v buněčných liniích s nejvyšší endogenní hladinou AKT aktivity (44). Kirkegaard a

spolupracovníci se ve své práci publikované v roce 2005 snažil ověřit hypotézu, že aktivace HER-2 s následnou aktivací AKT a ER vede u karcinomu prsu k vzniku rezistence na tamoxifen. Rodina serin/threonin protein kinaz má 3 isoformy: AKT1, která je exprimovaná asi u 20 % nádorů žaludku, AKT3, která je exprimovaná u buněčných linií hormonálně independentního karcinomu prsu a prostaty a AKT2. Na souboru 402 vzorků karcinomu prsu u pacientek léčených v adjuvanci tamoxifenem stanovili hladiny celkové AKT, AKT1, AKT2, AKT3 a ER. Pacientky, jejichž nádory měly vysokou expresi AKT2, měly signifikantně lepší celkové přežívání ($p=0.0115$) ve srovnání s pacientkami s nízkou expresí AKT2. Exprese AKT2 pozitivně korelovala s expresí progesteronového receptoru. Pacientky s vyšší hladinou AKT fosforylované na serinu 473 přežívaly relativně méně ($p=0.04$) a tato fosforylace pozitivně korelovala s Her-2 expresí. Podobná závislost nebyla pozorována u exprese ATK3, AKT1 a pan AKT exprese (45).

Progesteronový receptor

Za nádory s pozitivními steroidními receptory jsou označovány všechny nádory, které mají pozitivní estrogenový a/nebo progesteronový receptor (PgR). Vzhledem k tomu, že promotor genu pro PgR obsahuje úsek závislý od estrogenu (ERE), měla by exprese PgR sloužit i jako marker endokrinní závislosti. Navíc preklinické studie potvrdily, že blokádou funkce PgR lze u buněk navodit inhibici proliferace a indukci apoptózy (46). Na základě těchto poznatků byly vyvinuty inhibitory PgR k použití do klinické praxe. Dva z nich, onapristone a mifepristone, byly zkoušeny v klinických studiích II. fáze. Další fáze klinických studií však už neproběhly pro ztrátu komerční podpory. Za hlavní mechanismus účinku onapristonu se považuje indukce terminální diferenciace, která vede ke smrti buňky (47).

Aprino a spolupracovníci publikovali v roce 2005 zajímavé výsledky retrospektivní studie. Studie měla potvrdit hypotézu, že nádory s fenotypem ER+/PgR- mají agresivnější chování a ve větším procentu exprimují HER1/HER2 než nádory fenotypu ER+/PgR+. Na souboru celkem 31 415 pacientek srovnávali klinické a biologické znaky nádorů ER+/PgR+ a ER+/PgR-. Medián hladiny ER v nádorech ER+/PgR- byl zhruba poloviční než u nádorů ER+/PgR+ (47 fmol/l vs 103 fmol/l; $p<0.001$). Nádory ER+/PgR- se vyskytovaly častěji u starších žen, byly ve větším procentu aneuploidní (54% vs 48%; $p<0.001$) a měly vyšší proliferaci podle měření počtu buněk v S-fázi (33% vs 19%; $p<0.001$) než nádory ER+/PgR+. Navíc nádory ER+/PgR- třikrát častěji exprimovaly HER1 (25% vs 8%; $p<0.001$) a dvakrát častěji HER2 (21% vs 14%; $p<0.001$). 11399 pacientek bylo léčeno v adjuvanci tamoxifenem. U pacientek ER+/PgR+ nebyla exprese HER1 ani HER2 spojena s kratším intervalem bez nemoci nebo celkovým přežíváním. Na rozdíl od toho u pacientek s nádory ER+/PgR- byla overexprese HER1 i HER2 spojena se signifikantně kratším přežíváním bez nemoci (pro HER1: HR= 2,4; 95% CI= 1.0-5.4, $p=0.036$, pro HER2: HR=2.6; 95% CI=1.1-6.0; $p=0.022$). Výsledky studie podporují hypotézu, že exprese PgR je náhradním

markerem pro měření aktivity signální dráhy HER1 a/ anebo HER2 (48).

Další práci, která potvrzuje nezávislost prediktivní hodnoty PgR v odpovědi na léčbu tamoxifenem, je práce Stendhala a spolupracovníků, kterou publikovali loni v časopise *Clinical Cancer Research*. Na souboru 500 premenopauzálních pacientek léčených tamoxifenem sledovali závislost odpovědi tamoxifenu na hladině pozitivitivity PgR. Se stoupající hladinou ER nad 10% se zlepšoval i interval bez návratu nemoci u pacientek léčených tamoxifenem. Pokud však sledovali závislost účinnosti tamoxifenu na hladinách PgR, pouze u pacientek s expresí PgR nad 75% léčba tamoxifenem signifikantně zlepšila interval bez nemoci (RR=0.41, 95% CI=0.24-0.69; p=0.001) stejně jako celkové přežívání pacientek (RR=0.46; 95% CI=0.26-0.83; p=0.009) (49).

Několik klinických studií předpokládá, že vysoká signalizace růstových faktorů může být spojena s poklesem exprese PgR u karcinomu prsu (50). Nejnovější studie prokázaly, že růstové faktory, které aktivují cestu signalizace PI3K-Akt-mTOR, mohou snížit PR transkripci (51).

Tři stupně rezistence na tamoxifen

Jordan V.C., objevitel tamoxifenu, rozeznává tři fáze rezistence na tamoxifen. Tradiční model rezistence k látkám skupiny selektivních modulátorů ER (SERM), mezi které patří i tamoxifen vysvětluje jeho relativně krátkou dobu účinnosti (1-2 roky) během léčby metastatického onemocnění. (sem vložit obrázek č.2) Nádory s pozitivními estrogenovými receptory začnou být časem stimulovány buď přímo tamoxifenem nebo estrogeny, co je označované za fázi I. lékové rezistence na tamoxifen. Postupem času dochází ke vzniku II. fáze lékové rezistence na tamoxifen (cca za 5 let od začátku léčby), která je charakteristická tím, že nádorové buňky zůstávají stimulovány tamoxifenem, ale podání samotného estrogenu vede k smrti nádorových buněk. Pokud se tamoxifen v této fázi rezistence vysadí, můžeme pozorovat krátce trvající regresi nádoru. Ve finální fázi tamoxifenové rezistence, označované jako III. fáze, je růst

nádorových buněk autonomní a všechny antiestrogeny jsou neúčinné až na samotný estrogen (52). (obrázek č.3) Song a spolupracovníci předpokládají, že způsob, jakým estrogeny indukují buněčnou smrt v II. fázi rezistence, je signální dráha receptoru Fas/FasL (53).

S ohledem na výše uvedené je v současné době trend začlenit do léčebné strategie v klinických studiích po selhání II. řady hormonální léčby nádorů s pozitivními steroidními receptory i krátké období „léčby“ estradiolem (asi tři-měsíční), které má sloužit k restituci ER. Následně jsou pacientky léčeny kombinací inhibitoru aromatázy a fulvestrantu. Strategie cyklické hormonální léčby s krátkými úseky „promytí“ samotným estrogenem by tak mohla udržet pokročilé nádorové onemocnění s pozitivními steroidními receptory pod kontrolou léta.

Závěr

V průběhu posledních let byla publikována řada prací, která prokázala, že k transkripci ER dochází ne pouze na základě komplexu ER+ligand, ale i na základě interakce mezi koregulátory a ER a na základě signalizace drah pro růstové receptory. To představuje určitá možná vysvětlení vzniku rezistence k tamoxifenu a jiným lékům hormonální léčby u karcinomu prsu. V současné době je v klinickém zkoušení řada léků namířena proti jednotlivým signálním drahám. Karcinom prsu s pozitivními estrogenovými receptory není však jedna nemoc. Už dnes lze na základě genové exprese rozlišit dva typy karcinomu prsu s pozitivními ER: klinicky indolentní typ luminální A a více agresivní luminální B. Luminální B typ představuje skupinu nádorů, které mají zvýšenou expresi proliferčních genů, overexpresi HER2 a častěji mutaci p53. Zdá se přitom, že větší část buněčných regulací způsobujících rezistenci na tamoxifen se protíná v signální dráze PI3K-Akt-mTOR. Dalším krokem by tedy mohlo být rozdělení ER pozitivních nádorů a stanovení postupů hormonální léčby optimálních pro jednotlivé typy (54).

Práce byla podpořena grantem NR 8270-3/20

Literatura:

1. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group 1998. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet* 1998;351:1451-1467.
2. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ; Panel members. Meeting highlights: International expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann Oncol* 2005;16:1569-1583.
3. Demissie S, Silliman RA., Lash TL. Adjuvant tamoxifen: predictors of use, side effects and discontinuation in older women. *J Clin Oncol* 2001;19:322-328.
4. Howell A, Cuzick J, Baum M, Buzdar A, Dowsett M, Forbes JF, Houghton G, Houghton J, Locker GY, Tobias JS; ATAC Trialists' Group. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. *Lancet* 2005;365:60-62.
5. Breast International Group (BIG) 1-98 Collaborative Group; Thürlimann B, Keshaviah A, Coates A, Mouridsen H, Mauriac L, Forbes JF, Paridaens R, Castiglione-Gertsch M, Gelber RD, Rabaglio M, Smith I, Wardley A, Price KN, Goldhirsch A. A comparison of letrozole and tamoxifen in postmenopausal women with early breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353:2747-2757.
6. Jakesz R, Jonat W, Gnant M, Mittlboeck M, Greil R, Tausch C, Hilfrich J, Kwasny W, Menzel C, Samonigg H, Seifert M, Gademann G, Kaufmann M, Wolfgang J; ABCSG and the GABG. Switching of postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer to anastrozole after 2 years' adjuvant tamoxifen: combined results of ABCSG trial 8 and ARNO 95 trial. *Lancet* 2005;366:455-462.
7. Boccardo F, Rubagotti A, Guglielmini P, Fini A, Paladini G, Mesiti M, Rinaldini M, Scali S, Porpiglia M, Benedetto C, Restuccia N, Buzzi F, Franchi R, Massidda B, Distant V, Amadori D, Sismondi P. Switching to anastrozole versus continued tamoxifen treatment of early breast cancer. Updated results of the Italian tamoxifen anastrozole (ITA) trial. *Ann Oncol*. 2006 Jun;17 Suppl 7:vii10-vii14.
8. Kaufmann M, Jonat W, Hilfrich J, Eidtmann H, Gademann G, Zuna I, Von Minckwitz G, German Adjuvant Breast Cancer Group. Survival benefit of switching to anastrozole after 2 years' treatment with

- tamoxifen versus continued tamoxifen therapy: the ARNO 95 study. *J Clin Oncol* 2006;24(18 suppl):547.
9. Coombes RC, Kilburn LS, Snowdon CF, Paridaens R, Coleman RE, Jones SE, Jassem J, Van de Velde CJ, Delozier T, Alvarez I, Del Mastro L, Ortmann O, Diedrich K, Coates AS, Bajetta E, Holmberg SB, Dodwell D, Mickiewicz E, Andersen J, Lonning PE, Cocconi G, Forbes J, Castiglione M, Stuart N, Stewart A, Fallowfield LJ, Bertelli G, Hall E, Bogle RG, Carpentieri M, Colajori E, Subar M, Ireland E, Bliss JM; Intergroup Exemestane Study. Survival and safety of exemestane versus tamoxifen after 2-3 years' tamoxifen treatment (Intergroup Exemestane Study): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007;369(9561):559-70. Erratum in: *Lancet*. 2007;369(9565):906.
10. Hortobagyi GN, Kau SW, Buzdar AU, Theriault RL, Booser DJ, Gwyn K, Valero V. What is the prognosis of patients with operable breast cancer (BC) five years after diagnosis? *Proc Am Soc Clin Oncol* 2004; 23(14S) Abstract 585.
11. Goss PE, Ingle JN, Martino S, Robert NJ, Muss HB, Piccart MJ, Castiglione M, Tu D, Shepherd LE, Pritchard KI, Livingston RB, Davidson NE, Norton L, Perez EA, Abrams JS, Cameron DA, Palmer MJ, Pater JL. Randomized trial of letrozole following tamoxifen as extended adjuvant therapy in receptor-positive breast cancer: updated findings from NCIC CTG MA 17. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1262-1271.
12. Palmieri C, Cheng GJ, Saji S, Zelada-Hedman M, Warri A, Weihua Z, Van Noorden S, Wahlstrom T, Coombes RC, Warner M, Gustafsson JA. Estrogen receptor beta in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2002;9:1-13.
13. Kushner PJ, Agard DA, Greene GL, Scanlan TS, Shiau AK, Uht RM, Webb P. Estrogen receptor pathways to AP-1. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000; 74:311-317.
14. Kumar V, Green S, Stack G, Berry M, Jin JR, Chambon P. Functional domains of the human estrogen receptor. *Cell* 1987;51:941-51.
15. Kato S, Endoh H, Masuhiro Y, Kitamoto T, Uchiyama S, Sasaki H, Masushige S, Gotoh Y, Nishida E, Kawashima H, Metzger D, Chambon P. Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. *Science* 1995; 270:1491-4.
16. Osborne CK, Bardou V, Hopp TA, Chamness GC, Hilsenbeck SG, Fuqua SA, Wong J, Allred DC, Clark GM and Shiff R. Role of the estrogen receptor coactivator AIB1 (SRC-3) and HER-2/neu in tamoxifen resistance in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:353-361.
17. McKenna NJ, Lanz RB and O'Malley BW. Nuclear receptor coregulators: cellular and molecular biology. *Endocr Rev* 1999;20:321-344.
18. Lippman ME and Allegra JC. Quantitative estrogen receptor analyses: the response to endocrine and cytotoxic chemotherapy in human breast cancer and the disease-free interval. *Cancer* 1980;46:2829-2834.
19. 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(11):2469-76
20. Howell A, Robertson JF, Quaresma Albano A, Aschermannova A, Mauriac L, Kleeberg UR, Vergote I, Erikstein B, Webster A, Morris C. Fulvestrant, formerly ICI 182,780 is as effective as anastrozole in postmenopausal women with advanced breast cancer progressing after prior endocrine treatment. *J Clin Oncol*. 2002;20:3396-3403.
21. Karnik PS, Kulkarni S, Liu XP, Budd GT, Bukowski RM. Estrogen receptor mutation in tamoxifen-resistant breast cancer. *Cancer Res* 1994;54:349-353.
22. Johnston SR, Haynes BP, Smith IE, Jarman M, Sacks NP, Ebbs SR, Dowsett M. Acquired tamoxifen resistance in human breast cancer and reduced intra-tumoral drug concentration. *Lancet* 1993;342:1521-1522.
23. Stearns V, Johnson MD, Rae JM, Morocho A, Novielli A, Bhargava P, Hayes DF, Desta Z, Flockhart DA. Active tamoxifen metabolite plasma concentration after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95:1758-1764.
24. Anzick P, Kononen J, Walker RL, Azorsa DO, Tanner MM, Guan XY, Sauter G, Kallioniemi OP, Trent JM, Meltzer PS. AIB1, a steroidal receptor coactivator amplified in breast and ovarian cancer. *Science* 1997;277:965-968.
25. Tzukerman MT, Esty A, Santiso-Mere D, Danielian P, Parker MG, Stein RB, Pike JW, McDonnell DP. Human estrogen receptor transactivational capacity is determined by both cellular and promoter context and mediated by two functionally distinct intramolecular regions. *Mol Endocr* 1994;8:21-30.
26. Myers E, Fleming FJ, Cortty TB, Kelly G, McDermott EW, O'higgins NJ, Hill AD, Young LS. Inverse relationship between ER-beta and SRC-1 predicts outcome in endocrine-resistant breast cancer. *Br J Cancer* 2004;91(9):1687-93.
27. Lavinsky RM, Jepsen K, Heinzl T, Torchia J, Mullen TM, Schiff R, Del-Rio AL, Ricote M, Ngo S, Gemsch J, Hilsenbeck SG, Osborne CK, Glass CK, Rosenfeld MG, Rose DW. Diverse signaling pathways modulate nuclear receptor recruitment of N-CoR and SMRT complexes. *PNAS* 1998;95:2920-2925.
28. Keeton EK, Brown M. Cell cycle progression stimulated by tamoxifen-bound estrogen receptor-alpha and promoter-specific effects in breast cancer cells deficient in N-CoR and SMRT. *Mol Endocrinol*. 2005;19(6):1543-54.
29. Benz CC, Scott GK, Sarup JC, Johnson RM, Tripathy D, Coronado E, Shepard HM, Osborne CK. Estrogen-dependent, tamoxifen-resistant tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER2/neu. *Breast Cancer Res Treat*. 1992;24(2):85-95.
30. Witters LM, Kumar R, Chinchilli VM, Lipton A. Enhanced anti-proliferative activity of the combination of tamoxifen plus HER-2-neu antibody. *Breast Cancer Res Treat* 1997;42:1-5.
31. Nicholson RI, Hutcheson IR, Harper ME, Knowlden JM, Barrow D, McClelland RA, Jones HE, Wakeling AE, Gee JM. Modulation of epidermal growth factor receptor in endocrine-resistant, estrogen-receptor-positive breast cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2002;963:104-115.
32. Dowsett M. Overexpression of HER-2 as a resistance mechanism to hormonal therapy for breast cancer. *Endocr Related Cancer* 2001;8:191-195.
33. De Placido S, De Laurentiis M, Carlomagno C, Gallo C, Perrone F, Pepe S, Ruggiero A, Marinelli A, Pagliarulo C, Panico L, Pettinato G, Petrella G, Bianco AR. Twenty year results of the Naples GUN Randomised Trial: Predictive factors of adjuvant tamoxifen efficacy in early breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003;9:1039-1046.
34. Dowsett M, Houghton J, Iden C, Salter J, Farndon J, A'Hern R, Sainsbury R, Baum M. Benefit from adjuvant tamoxifen therapy in primary breast cancer patients according oestrogen receptor, progesterone receptor, EGF receptor and HER2 status. *Ann Oncol*. 2006;17(5):818-26.
35. De Laurentiis M, Arpino G, Massarelli E, Ruggiero A, Carlomagno C, Ciardiello F, Tortora G, D'Agostino D, Caputo F, et al. A meta-analysis on the interaction between HER-2 expression and response to endocrine treatment in advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:4741-4748.
36. Ellis MJ, Coop A, Singh B, Mauriac L, Llombert-Cussac A, Janicke F, Miller WR, Evans DB, Dugan M, Brady C, Quebe-Fehling E, Borgs M. Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine therapy than tamoxifen for Erb-B-1 and/or Erb-B-2 positive, estrogen receptor positive primary breast cancer: evidence from a phase III. randomised trial. *J Clin Oncol* 2001;19:3808-3816.
37. Smith IE, Dowsett M, Ebbs SR, Dixon JM, Skene A, Blohmer JU, Ashley SE, Francis S, Boeddinghaus I, Walsh G; IMPACT Trialists Group. Neoadjuvant treatment of postmenopausal breast cancer with anastrozole, tamoxifen, or both in combination: the Immediate Preoperative Anastrozole, Tamoxifen, or Combined with Tamoxifen (IMPACT) multicenter double-blind randomized trial. *J Clin Oncol*. 2005;23(22):5108-16.
38. Newby JC, Johnston SR, Smith IE, Dowsett M. Expression of epidermal growth factor receptor and c-erbB2 during the development of tamoxifen resistance in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 1997;3:1643-1651.
39. Van Oijen MG, Slootweg PJ. Gain-of-function mutations in the tumor suppressor gene p53. *Clin Cancer Res*. 2000;6(6):2138-45.
40. Berns EM, Klijn JG, Look MP, Grebenchtchikov N, Vossen R, Peters H, Geurts-Moespot A, Portengen H, van Staveren IL, Meijer-van Gelder ME, Bakker B, Sweep FC, Foekens JA. Combined vascular endothelial growth factor and TP53 status predicts poor response to tamoxifen therapy in estrogen receptor-positive advanced breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2003;9(4):1253-8.
41. Miller LD, Smeds J, George J, Vega VB, Vergara L, Ploner A,

- Pawitan Y, Hall P, Klaar S, Liu ET, Bergh J. An expression signature for p53 status in human breast cancer predicts mutation status, transcriptional effects, and patient survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(38):13550-5. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(49):17882.
42. Simoncini T, Hafezi-Moghadam A, Brazil DP, Ley K, Chin WW, Liao JK. Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of phosphatidylinositol-3-OH kinase. *Nature*. 2000 Sep 28;407(6803):538-41.
 43. Campbell RA, Bhat-Nakshatri P, Patel NM, Constantinidou D, Ali S, Nakshatri H. Phosphatidylinositol 3-kinase/AKT-mediated activation of estrogen receptor alpha: a new model for anti-estrogen resistance. *J Biol Chem* 2001;276:9817-9824.
 44. Clark AS, West K, Streicher S, Dennis PA. Constitutive and inducible Akt activity promotes resistance to chemotherapy, trastuzumab, or tamoxifen in breast cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2002;1:707-717.
 45. Kirkegaard T, Witton CJ, McGlynn LM, Tovey SM, Dunne B, Lyon A, Barlett MS. AKT activation predicts outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen. *J Pathol* 2005; 207:139-146.
 46. Clarke CL, Feil PD, Satyaswaroop PG. Progesterone receptor regulation by 17-beta estradiol in human endometrial carcinoma grown in nude mice. *Endocrinology* 1987;121:1642-8.
 47. Michna H, Schneider MR, Nishino Y., el Etreby MF. The antitumor mechanism of progesterone antagonists is a receptor mediated antiproliferative effect by induction of terminal cell death. *J Steroid Biochem* 1989;34:447-53.
 48. Arpino G, Weiss H, Lee AV, Schiff R, De Placido S, Osborne CK, Elledge RM. Estrogen receptor-positive, progesterone receptor negative breast cancer: association with growth factor receptor expression and tamoxifen resistance. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1254-61.
 49. Stendahl M, Ryden L, Nordenskjold B, Jonsson PE, Landberg G, Jirstrom K. High progesterone receptor expression correlates to the effect of adjuvant tamoxifen in premenopausal breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2006;12(15):4614-8.
 50. Konecny G, Pauletti G, Pegram M, Untch M, Dandekar S, Aguilar Z, Wilson C, Rong HM, Bauerfeind I, Felber M, Wang HJ, Beryt M, Seshadri R, Hepp H, Slamon DJ. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor-positive primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:142-53.
 51. Petz LN, Ziegler YS, Schulz JR, Nardulli AM. Fos and Jun inhibit estrogen-induced transcription of the human progesterone receptor gene through an activator protein-1 site. *Mol Endocrinol* 2004;18:521-32.
 52. Jordan VC. Selective estrogen receptor modulation: Concept and consequences in cancer. *Cancer Cell* 2004; 5:207-213.
 53. Song RX, Mor G, Naftolin F, McPherson R A, Song J, Zhang Z, Yeu W, Wang J, Santen R. Effect of long-term estrogen deprivation on apoptotic responses of breast cancer cells to 17beta estradiol. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:1714-23.
 54. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Johnsen H, Pesich R, Geisler S, Demeter J, Perou CM, Lonning PE, Brown PO, Borresen-Dale AL, Botstein D. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8418-8423.

Korespondenční adresa:
MUDr.Katarína Petráková CSc
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7, 65653 Brno
petrakova@mou.cz

Došlo / Submitted: 22. 6. 2007
Přijato / Accepted: 30. 7. 2007

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.
The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.
The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.