

Сигнальные пути, регулируемые эстрогенами, и их роль в опухолевой прогрессии: новые факты и направления поиска

М.А. Красильников, А.М. Щербаков

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Контакты: Михаил Александрович Красильников krasilnikovm@main.crc.umos.ru

Более сорока лет антиэстроген тамоксифен успешно применяется в терапии рака молочной железы, но основной проблемой в его применении до настоящего времени остается развитие у больных гормональной резистентности, существенно ограничивающей эффективность антиэстрогеновой терапии. За последние годы достигнут значительный прогресс в понимании механизмов формирования гормональной резистентности и выявлены новые молекулярные пути, поддерживающие рост опухоли в условиях «выключения» рецепторов эстрогенов. В обзоре проанализированы результаты исследований, в том числе выполненных в ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, посвященных новым аспектам этой тематики — активности сигнальных путей HIF-1 α /VEGF, эпителиально-мезенхимального перехода и mTOR/AMPK; показано, как на молекулярном уровне формируется устойчивость опухоли к действию гормональных цитостатических препаратов. Некоторые из сигнальных белков рассмотрены в качестве показателей прогноза и/или перспективных мишеней таргетной терапии резистентных форм рака молочной железы.

Ключевые слова: онкология, гормональная резистентность, Snail, HIF-1 α , VEGF, рецепторы эстрогенов, рак молочной железы

Estrogen-dependent signaling pathways and their role in the tumor progression: progress and perspectives

M.A. Krasil'nikov, A.M. Shcherbakov

Federal State Budgetary Institution "N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center", Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Over the last forty years antiestrogen tamoxifen belongs to the most effective antitumor drugs widely used in the treatment of breast cancer, however, the efficiency of tamoxifen therapy is often limited by development of tumor hormonal resistance. The study of the mechanism of hormonal resistance led to the significant progress in the insight in signaling pathways respondent for the cancer cell growth in the absence of estrogen. In the review we have analyzed the recent data including our results obtained in the N.N. Blokhin RCRC, concerned with the study of the new aspects of hormonal resistance — the involvement of hypoxia-dependent HIF-1 α /VEGF pathway, epithelial-mesenchymal transition and mTOR/AMPK in the formation of estrogen-independent phenotype. Some of the signaling proteins are considered as the potential targets for the therapy of the estrogen-resistant breast cancer.

Key words: oncology, hormonal resistance, Snail, HIF-1 α , VEGF, estrogen receptors, breast cancer

Введение

Основу современных представлений о механизме действия стероидных гормонов заложила теория E.V. Jensen [1], предложившего двухступенчатую модель действия гормона. В рамках этой модели молекула стероидного гормона, проникая внутрь клетки-мишени, связывается со специфическим белком-рецептором, затем образовавшийся гормон-рецепторный комплекс транслоцируется в клеточное ядро, где взаимодействует со специфическими последовательностями ДНК и изменяет экспрессию соответствующих генов. За последующие 40 лет были существенно расширены представления о механизме действия стероидов — расшифрована доменная структура рецепторов, последовательность рецептор-связывающих участков ДНК, открыты и описаны эпигеномные эффекты рецепторов, но в целом основные положения модели Jensen остаются справедливыми и сегодня.

Присутствие специфических рецепторов является совершенно необходимым для реализации действия

гормонов и во многом определяет уровень гормональной зависимости опухолей [2–5]. Так, содержание рецепторов эстрогенов (ER) является на сегодняшний день основным критерием определения чувствительности больных раком молочной железы (РМЖ) к антиэстрогенам (в частности, к тамоксифену) и другим видам гормонотерапии [3, 4, 6–9]. Различают врожденную и приобретенную гормональную резистентность РМЖ (под последней подразумевают резистентность к гормональным препаратам, развившуюся в процессе терапии). В обоих случаях снижение гормональной зависимости может быть обусловлено как уменьшением содержания ER, так и рядом других факторов, среди которых — нарушение баланса между белками-активаторами и супрессорами ER, лиганд-независимая активация ER; стимуляция сигнальных путей, идущих в обход ER (EGFR, PI3K, NF- κ B) и поддерживающих тем самым рост РМЖ в отсутствие эстрогенов [3, 4, 10–13].

Но почему столь часто встречается врожденная резистентность к эстрогенам — по разным данным, от 30

до 50 % всех случаев РМЖ [14] — ведь переход клеток с эстрогензависимого роста (ER+ фенотип) на эстрогеннезависимый (ER— фенотип) не несет с собой никаких преимуществ в женском организме, полном эстрогенами! Да, возможность негативных мутаций гена *ESR1* (ERα) всегда есть, но тут следует отметить, что опухоли молочной железы с полностью инактивированным геном *ESR1* — сравнительно редкий случай, значительно чаще экспрессия ERα оказывается лишь частично подавленной [15, 16]. В случае приобретенной гормональной резистентности (приобретенной в процессе гормональной терапии) ситуация более ясная — в клетках РМЖ для преодоления цитостатического блока антиэстрогенов активируются эстрогеннезависимые пути роста, в первую очередь тирозинкиназные рецепторы: EGFR, HER2/Neu, IGFR, при этом содержание ERα снижается.

Что же определяет потерю ERα клетками РМЖ в условиях обычного роста, какие факторы в этом случае стимулируют формирование эстрогеннезависимого фенотипа? Исследования последних лет показали, что, во всяком случае, одним из таких факторов может являться дефицит кислорода — гипоксия, постоянно сопровождающая рост солидных опухолей.

Как известно, опухолевые клетки способны быстро адаптироваться к гипоксии и в целом опухоли, развивающиеся в условиях гипоксии, характеризуются более высокой степенью злокачественности и выраженной способностью к автономному, нерегулируемому росту [17–20]. Адаптация опухолей к гипоксии во многом определяется HIF-1-сигнальной системой, основанной на активации в условиях гипоксии транскрипционного фактора HIF-1 и последующей стимуляции экспрессии HIF-1-зависимых генов. Среди активируемых таким образом сигнальных белков находятся и белки с выраженной протективной и митогенной функцией, в том числе белки тирозинкиназного ростового сигналинга, Snail/β-катенин и mTOR-сигнальных путей [21–24]. Ниже будут более подробно рассмотрены судьба аппарата рецепторов эстрогенов в условиях гипоксии и участие некоторых из активируемых гипоксией сигнальных белков в развитии гормональной независимости РМЖ.

Рецепторы эстрогенов и тирозинкиназные рецепторы ростовых факторов в условиях гипоксии

Несмотря на значительный прогресс в исследовании молекулярного механизма реакции опухолевых клеток на гипоксию, значение аппарата рецепторов эстрогенов в этом процессе остается малоизученным. Судя по результатам отдельных работ, в условиях дефицита кислорода содержание ERα может снижаться [25, 26]. Так, описано специфическое подавление экспрессии ERα и прогестеронового рецептора при разных гипоксических условиях (1 % и 0,1 % O₂) [25, 27], а также в присутствии гипоксия-миметических соединений [28], причем подавление функций ERα может

быть связано как с усилением его протеасомной деградации, так и с пониженной транскрипцией гена *ESR1* в условиях гипоксии [25, 29]. Гипоксия-зависимая деградация ERα сопровождается снижением его транскрипционной активности и блокируется в присутствии ингибитора протеасом MG-132 [25, 30]. В некоторых исследованиях отмечается возможность лиганд-независимой активации ERα через прямое взаимодействие HIF-1α и ERα [31]. Интересно, что повторяющиеся циклы гипоксии-реоксигенации приводят к необратимому снижению содержания ERα и уменьшению гормональной чувствительности клеток РМЖ, которые уже не восстанавливаются при последующей реоксигенации [32].

В наших экспериментах был продемонстрирован эффект гипоксия-зависимой деградации ERα в клетках эстрогензависимого РМЖ MCF-7 и показано, что снижение содержания/активности ERα и, соответственно, частичное исключение его из цепи передачи митогенного сигнала приводит к увеличению устойчивости клеток к гипоксии [33].

В то же время в литературе неоднократно отмечалось, что активность рецепторов белково-пептидных факторов, в частности EGFR, IGFR, может не только не снижаться в условиях гипоксии, но, наоборот, возрастать, во многом благодаря позитивному контролю со стороны HIF-1 [34, 35]. Гипоксия вызывает как увеличение экспрессии гена *EGFR* [35, 36], так и увеличение скорости трансляции мРНК EGFR [34]. Анализ образцов опухолей молочной железы показал обратную корреляцию между уровнем HIF-1 и содержанием ERα, но прямую корреляцию между HIF-1 и экспрессией HER2/Neu, одного из основных тирозинкиназных рецепторов, гиперэкспрессированных при РМЖ [37].

В экспериментах на культуре клеток MCF-7 мы провели параллельный анализ изменений содержания ERα и HER2/Neu в условиях гипоксии — результаты показали, что на фоне снижения содержания ERα уровень HER2/Neu остается практически без изменений [33]. Таким образом, подобная разница в стабильности ERα и рецепторов ростовых факторов может быть одной из причин постепенной потери ERα и развития гормональной резистентности клеток РМЖ в условиях гипоксии. При этом на смену ERα-зависимых сигнальных путей приходят эстрогеннезависимые пути передачи митогенного сигнала. Центральное место среди последних занимают тирозинкиназные рецепторы ростовых факторов, в первую очередь уже упоминавшиеся EGFR, IGFR, HER2/Neu. Значению тирозинкиназных рецепторов в поддержании эстрогеннезависимого роста посвящена огромная литература (см. обзоры [38, 39]), созданы таргетные препараты — ингибиторы тирозинкиназ [40], и на сегодня участие тирозинкиназных рецепторов в регуляции роста эстрогеннезависимых опухолей не подвергается сомнению.

Но вместе с тем становится очевидно, что переход клеток РМЖ к эстрогеннезависимому росту не огра-

ничивается активацией тирозинкиназного каскада и сопряженных с ним белков. Об этом достаточно убедительно свидетельствует невысокая эффективность противоопухолевых таргетных препаратов — ингибиторов тирозинкиназ, да и экспериментальные исследования демонстрируют возможность активации в случае гормональной резистентности и других сигнальных путей, которые могут быть гиперэкспрессированы уже вне зависимости от ростового сигналинга [41–43]. Оказалось, что к таким сигнальным путям в первую очередь относятся пути, активируемые гипоксией, в регуляции которых принимает активное участие HIF-1 α — об их участии в регуляции эстрогеннезависимого роста и пойдет речь ниже.

HIF-1 α /VEGF-сигнальный путь и гормональная резистентность РМЖ

Как было отмечено выше, опухолевые клетки способны быстро адаптироваться к пониженному содержанию кислорода и основным фактором, поддерживающим быструю реакцию опухоли на гипоксию, является транскрипционный фактор HIF-1 α [44, 45]. Количество генов, регулируемых гипоксией/HIF-1 α , крайне велико и варьируется от 1 % до 5 % всех генов в зависимости от типа клеток [46]. Гипоксия-зависимая стабилизация HIF-1 α приводит к изменению активности/экспрессии широкого спектра белков, отвечающих за «перевод» клетки в режим дефицита кислорода, среди них белки-регуляторы гликолиза, пролиферации, выживаемости клеток, неоангиогенеза (роста новых сосудов), множественной лекарственной устойчивости, клеточной подвижности, метаболизма ионов железа и многие др. [21, 22]. Суммируя цитированные в предыдущем разделе работы, можно заключить, что молекулярный путь HIF-1 α тесно взаимосвязан с рецепторами эстрогенов и играет значительную роль в регуляции чувствительности опухолевых клеток к стероидным гормонам. В этом разделе будут более подробно рассмотрены некоторые HIF-1 α -ассоциированные белки и их взаимодействия, определяющие эстрогеннезависимый рост клеток (в частности, клеток РМЖ).

Протективное действие HIF-1 α , его взаимосвязь с ER α и другими сигнальными белками определяют интерес к нему как к потенциальному фактору прогноза течения заболевания и эффективности терапии. Анализ, проведенный P.N. Span et al., показал, что опухоли молочной железы с низким уровнем CAIX (carbonic anhydrase IX, одной из основных мишеней HIF-1 α) были более чувствительны к эндокринной и химиотерапии [19]. D. Generali et al. провели исследование с участием 187 больных РМЖ, получающих эпирубицин (цитостатический препарат из ряда антрациклиновых антибиотиков) или эпирубицин в комбинации с тамоксифеном в качестве неoadъювантной терапии, и показали, что экспрессия HIF-1 α и CAIX в опухоли ассоциируется с устойчивостью к химиотерапии и низкими показателями безрецидивной выживаемости [17].

Другое исследование, проведенное D. Generali et al. в 2009 г., включало 114 больных РМЖ и выявило прямую корреляцию между экспрессией клетками опухоли HIF-1 α и устойчивостью к неoadъювантной терапии ингибитором ароматазы (летрозолом) [18].

К сожалению, исследования, в которых проводится непосредственная оценка HIF-1 α в образцах РМЖ, в целом немногочисленны. Иная ситуация наблюдается в отношении ключевой мишени HIF-1 α — VEGF (VEGF-A), фактора роста эндотелия сосудов [47–49]. Этому показателю посвящены сотни работ, и интерес к этому фактору роста продолжает расти. Установлено, что эстрадиол стимулирует синтез VEGF, и действие HIF-1 α и ER α в отношении VEGF носит синергетический характер [50, 51]. Добавление в культуральную среду антиэстрогена Фазлодекса ингибирует эстроген-индуцированный синтез VEGF, что свидетельствует об участии в регуляции экспрессии VEGF рецепторов эстрогенов. С другой стороны, антиэстрогены тамоксифен и торемифен, напротив, вызывают парадоксальное увеличение синтеза мРНК VEGF, свидетельствуя о возможном участии последнего в снижении эффективности гормональной терапии и развитии гормональной резистентности РМЖ [52].

Мы показали, что развитие гормональной резистентности клеток РМЖ MCF-7 сопровождается гиперактивацией VEGF/VEGFR2/MAPK сигнального пути; специфический ингибитор VEGF эффективно подавляет эстрогеннезависимый рост клеток [53]. Перспективными являются комбинированные схемы терапии РМЖ с использованием ингибиторов VEGF/VEGFR и ингибиторов ER α (или ингибиторов ароматазы) [54–56]. Так, комбинированное применение тамоксифена с ингибитором синтеза VEGF (Celecoxib) показало высокую эффективность к отношению клеток РМЖ MCF-7 и MDA-MB-231 [55]. В отличие от классических антиангиогенных препаратов (например, бевацизумаба), действие которых основано на снижении содержания продуцируемого опухолью белка VEGF, Celecoxib влияет на активность промотора VEGF и ингибирует непосредственно синтез VEGF, что, в частности, позволяет избежать нежелательных проангиогенных эффектов тамоксифена. В настоящее время проводятся исследования применения у больных метастатическим РМЖ комбинированной терапии ингибитором ароматазы (летрозол или экзестан, или анастрозол) и PTC299 — новым специфическим ингибитором мРНК VEGF (ClinicalTrials.gov NCT00508586).

В целом, гипоксия вызывает в клетках ряд метаболических и молекулярных «перестроений», и гиперактивация сигнального пути HIF-1 α /VEGF — одно из ключевых событий, происходящих при снижении уровня кислорода в растущей опухоли. Другим событием, не менее важным для метаболизма клетки, является индукция под действием гипоксии некоторых белков-регуляторов эпителиально-мезенхимального перехода

(ЭМП), об этих белках и их роли в регуляции гормональной зависимости РМЖ пойдет речь ниже.

Эпителиально-мезенхимальный переход, белки семейства Snail и гормональная резистентность

На сегодняшний день ЭМП рассматривают в качестве ключевого этапа опухолевой прогрессии, во многом определяющего способность опухолевых клеток к инвазии и метастазированию [57–60]. Центральным событием в инициации ЭМП является активация транскрипционных белков-репрессоров Snail1 (Snail) и Snail2 (Slug), которые вызывают снижение синтеза белка Е-кадгерина и последующее уменьшение клеточных контактов [61–63]. Кроме представителей семейства Snail, функции транскрипционных репрессоров Е-кадгерина могут выполнять белки из семейства ZEB (ZEB1 и ZEB2), белок E47 из семейства bHLH и белок KLF-8 [64].

Сравнительно недавно обнаружено, что потеря опухолевыми клетками, в частности клетками РМЖ, гормональной зависимости во многих случаях сопровождается появлением отдельных признаков ЭМП и существенным увеличением метастатического и инвазивного потенциала клеток. Продemonстрирована обратная корреляция между активностью ER α и экспрессией Snail2 [65], в отдельных исследованиях описан взаимный антагонизм этих белков [66].

Оказалось, что ER α могут подавлять экспрессию Snail1 либо напрямую — через образование неактивных транскрипционных комплексов на промоторе [67], либо опосредованно, стимулируя синтез MTA3 (metastasis-associated protein 3), эстрогензависимого транскрипционного ингибитора Snail [68, 69]. Примечательно, что и Snail1, являясь транскрипционным репрессором, может подавлять экспрессию ER α за счет образования репрессорных комплексов на промоторе гена *ESR1* [68]. Эксперименты, проведенные нами на линиях клеток РМЖ с различным рецепторным статусом, выявили обратную зависимость между содержанием Snail1 и уровнем ER α : содержание Snail1 оказалось выше в ER α -негативных клетках HBL-100 по сравнению с ER α -позитивными клетками. При этом сравнение уровня Snail1 в ER α -позитивных клетках MCF-7 и MCF-7/LS (эстрогеннезависимая сублиния клеток с экспрессией ER α) показало относительное повышение содержания Snail1 в эстрогеннезависимых клетках MCF-7/LS [70, 71]. В целом результаты этих работ свидетельствуют о том, что нарушение функции гормонального аппарата опухолевых клеток развивается одновременно с активацией Snail и стимуляцией ЭМП.

Представленные выше экспериментальные данные о взаимосвязи Snail1 и ER α находят подтверждение при исследовании образцов РМЖ. Так в работе J. Geradts et al., включавшей анализ 78 больных РМЖ, показана обратная корреляция между экспрессией ER α и ядерным содержанием Snail1 [72]. Продemonстрировано, что ядерное содержание Snail1 выявляется

приблизительно в 80 % образцов трижды негативного РМЖ (ER–/PR–/HER2–). Экспрессия транскрипционного фактора ZEB1, также как и Snail1, играющего важную роль при метастазировании, не коррелировала со статусом ER α . Ядерное содержание Snail1 выявлено в 45 % образцов карциномы *in situ*, что, учитывая роль этого белка в регуляции инвазии, может указывать на высокую вероятность развития инвазивного рака в этой группе больных.

В ряде работ было показано, что HIF-1 α контролирует ЭМП, регулируя экспрессию и активность таких транскрипционных факторов, как Snail1, Twist, Slug, SIP1 и ZEB1. Индукция ЭМП в условиях гипоксии была продемонстрирована в различных клеточных линиях [73–77] и проявлялась в изменении содержания в клетках эпителиальных и мезенхимальных маркеров и увеличении способности клеток к инвазии. В нашем исследовании продемонстрировано, что в условиях гипоксии происходит активация транскрипционного фактора β -катенина, которая поддерживается белком ЭМП Snail1. В свою очередь, активированный β -катенин регулирует экспрессию генов ответа клеток на гипоксию и, соответственно, поддерживает устойчивость РМЖ к пониженному содержанию кислорода. Координированная активация системы белков Snail1/ β -катенин/HIF-1 α с происходящим параллельно угнетением в клетке пути ER α может рассматриваться как важная группа факторов, определяющая устойчивость опухоли как к гипоксическим условиям, так и к эндокринной терапии [24, 33, 78]. Реализации таких «защитных молекулярных программ» опухолевой клетки, направленных против стрессов и снижающих эффективность препаратов химио- и гормонотерапии, возможно помешать с помощью (ре-) активации генов-супрессоров, среди интересных кандидатов в эту группу — ER β (рецептор эстрогенов бета), белок, имеющий гомологию с ER α и проявляющий ингибирующие свойства в отношении пути HIF-1 α /VEGF и ЭМП [79, 80].

ER β , гипоксия и гормональная резистентность

Немногим более 15 лет назад в упоминавшуюся выше стройную концепцию действия стероидных гормонов, предложенную E. V. Jensen, исследователи были вынуждены внести определенные дополнения — в связи с открытием второй формы рецептора эстрогенов, получившей название ER β [81]. Имея практически гомологичный с ER α ДНК-связывающий домен, ER β отличается от ER α последовательностями доменов AF-1 и AF-2, ответственных за активацию рецептора и связывание лиганда [82]. Спектр генов, регулируемых ER α и ER β , существенно различается, не более 40 % таких генов являются общими для обоих типов рецепторов. Соответственно, различаются и биологические функции ER α и ER β : если ER α преимущественно стимулирует клеточную пролиферацию, то ER β относится к генам-супрессорам клеточного деления. В норме

в эпителии молочной железы соотношение $ER\alpha/ER\beta$ составляет примерно 1:8. В опухолевых клетках экспрессия $ER\alpha$ увеличивается, а содержание $ER\beta$ существенно уменьшается по сравнению с нормальной тканью, и в итоге соотношение $ER\alpha/ER\beta$ становится обратным, приближаясь к 8:1 [83]. В большинстве экспериментальных исследований отмечается способность $ER\beta$ снижать активность ростовых сигнальных путей и тормозить пролиферацию клеток, и потерю $ER\beta$ многие авторы рассматривают как один из факторов, определяющих тенденцию опухолевых клеток молочной железы к нерегулируемому росту [83, 84].

В условиях гипоксии $ER\alpha$ и $ER\beta$ ведут себя совершенно по-разному. Если $ER\alpha$, как уже отмечалось, при гипоксии подвергается протеасомной деградации [25, 30], то $ER\beta$ является достаточно стабильным белком и его содержание при гипоксии не снижается [85, 86]. $ER\beta$ эффективно подавляет экспрессию HIF-1 α , VEGF [80, 87–89] и активность нижележащих сигнальных путей, в первую очередь PI3K/mTOR-пути [85], что свидетельствует о его способности усиливать вызванное гипоксией торможение клеточного роста и препятствовать адаптации клеток к гипоксии.

Собственно роли $ER\beta$ в развитии гормональной резистентности РМЖ посвящено достаточно большое количество исследований (см. обзоры [83, 90]). Анализ $ER\beta$ в культивируемых *in vitro* клеточных линиях эстрогензависимого и резистентного РМЖ не выявил корреляции между активностью $ER\beta$ и уровнем гормональной зависимости клеток — эстрогеннезависимые линии РМЖ могут обладать различным уровнем экспрессии $ER\beta$, но, как правило — невысоким [91]. При этом хорошо документирована и описана на различных клеточных моделях антипролиферативная активность $ER\beta$, в том числе и способность $ER\beta$ ингибировать $ER\alpha$ путем образования неактивных гетероккомплексов [92]. В целом $ER\beta$ рассматривается в качестве негативного регулятора клеточного роста, ограничивающего пролиферацию как эстрогензависимых, так и резистентных форм РМЖ. Способность $ER\beta$ сдерживать автономный рост клеток и препятствовать развитию гормональной резистентности РМЖ косвенно подтверждается и данными экспериментально-клинических исследований, свидетельствующими о низкой экспрессии либо отсутствии $ER\beta$ в эстрогеннезависимых опухолях молочной железы [93, 94].

Каким же образом опухолевой клетке удастся преодолеть пролиферативный блок $ER\beta$? Одним из установленных механизмов негативной регуляции $ER\beta$ в клетках РМЖ является, безусловно, метилирование ДНК [95]. Уровень метилирования промотора $ER\beta$ резко возрастает в клетках РМЖ по сравнению с клетками нормального эпителия молочной железы; продемонстрирована обратная зависимость между метилированием промотора $ER\beta$ и его экспрессией [91]. Сравнительно недавно было обнаружено, что развитие приобретенной гормональной резистентности клеток

РМЖ может сопровождаться гиперметилованием некоторых антипролиферативных генов [96]; скорее всего, этот эффект распространяется и на $ER\beta$.

В целом на сегодняшний день только формируются представления о роли $ER\beta$ как гена-супрессора опухолевого роста, стоящего на пути нерегулируемого, в том числе эстрогеннезависимого, размножения опухолевых клеток; восстановление уровня $ER\beta$ и его активация с помощью специфических лигандов-агонистов может стать одним из перспективных направлений таргетной терапии РМЖ.

АМРК, mTOR и гормональная резистентность

Несмотря на все разнообразие рост-регулирующих сигнальных путей, в опухолевых клетках существует единый универсальный механизм передачи пролиферативного сигнала на аппарат синтеза белка, обеспечивающий быструю активацию трансляции при стимуляции клеточного роста. Эту роль выполняет mTOR-сигнальный путь, ответственный за координированную регуляцию транскрипционного и трансляционного аппаратов клетки. Конститутивная активация mTOR-сигнального пути относится к числу распространенных характеристик опухолевого роста [41, 97, 98], в том числе описана активация mTOR при развитии гормональной резистентности и стимуляции эстрогеннезависимого роста РМЖ [99–101]. Гипоксия вызывает быстрое снижение активности mTOR в клетках, которое во многом определяет эффект гипоксия-зависимого торможения клеточного роста [102], при этом гиперэкспрессия mTOR приводит к развитию относительной толерантности клеток к гипоксии [103–105].

Если позитивная регуляция mTOR опосредована различными сигнальными путями, в первую очередь белками PI3K/Akt-сигнального пути [106], то среди негативных регуляторов mTOR выделяется АМФ-зависимая киназа (АМРК), активация которой в условиях энергетического голодания приводит к подавлению mTOR-сигнального пути и последующему угнетению транскрипции и трансляции [98, 107, 108].

Активация АМРК происходит с участием серинтреониновой киназы LKB1 (liver kinase B1), ответственной за фосфорилирование АМРК [109, 110]. LKB1 относят к генам-супрессорам опухолевого роста, мутации которой достаточно часто встречаются в злокачественных опухолях различной локализации [111, 112]. В целом блок в цепи передачи сигнала LKB1-АМРК-mTOR является одним из факторов, способствующих неконтролируемому росту опухолевых клеток [113], но при этом вопрос об участии этого сигнального пути в развитии и поддержании гормональной резистентности только начинает активно исследоваться.

В наших экспериментах мы обнаружили, что в эстрогеннезависимых линиях РМЖ HBL-100 и MDA-MB-231 в отличие от эстрогензависимой линии MCF-7 уровень фосфорилирования АМРК практически не возрастает ни в условиях гипоксии, ни при действии

специфического активатора АМПК фенформина, что коррелирует с относительно большей устойчивостью эстрогеннезависимых линий к действию этих факторов. В какой степени подобный сбой в системе активации АМПК связан с нарушениями LKB1 и насколько эти изменения важны для развития и поддержания эстрогеновой независимости РМЖ — задача будущих исследований, но уже сейчас можно предположить, что нарушения в функционировании АМПК и связанную с этим конститутивную активацию mTOR можно рассматривать как минимум в качестве факторов, сопровождающих развитие эстрогеновой независимости. В пользу этого предположения свидетельствуют и обсуждавшиеся выше факты активации mTOR при развитии гормональной резистентности РМЖ [99, 101].

В настоящее время имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют о существовании тесной связи между адаптацией клеток РМЖ к гипоксии и развитием гормональной независимости, в основе такой связи — активация в условиях гипоксии целого ряда сигнальных путей, стимулирующих автономный рост и выживаемость клеток опухолей молочной железы. В их числе — стимуляция в эстрогеннезависимых клетках тирозинкиназного каскада, инициируемого рецепторами ростовых факторов, которые по сравне-

нию с рецептором эстрогенов EРa значительно более устойчивы к гипоксии. Это активация гипоксия-зависимых сигнальных путей, в первую очередь HIF-1/VEGF и Snail/ β -катенин, поддерживающих эстрогеннезависимый рост и выживаемость клеток РМЖ; активация mTOR-сигнального пути, в том числе прекращение его негативной регуляции со стороны генов-супрессоров опухолевого роста LKB1, АМПК, EР β . Все это открывает новые пути к таргетной терапии эстрогеннезависимых форм РМЖ, основанной на подавлении указанных сигнальных белков. Так, сегодня уже активно исследуются возможности таргетной терапии РМЖ с использованием ингибиторов пути VEGF (авастин, PTC299, cediranib и др.), ингибиторов mTOR (эверолимус) и активаторов АМПК (метформин). При этом наиболее перспективным представляется сочетание не менее двух соединений разнонаправленного действия, что позволит одновременно заблокировать активность нескольких сигнальных белков, тем самым снизив вероятность активации параллельных сигнальных путей и развития резистентности в опухолевых клетках.

Работы авторов по тематике обзора выполнены при финансовой поддержке РФФИ, гранты 12-04-00992 (А. Ш.), 13-04-00284 (М. К.).

ЛИТЕРАТУРА

- Jensen E.V., DeSombre E.R. Estrogen-receptor interaction. *Science* 1973;182(4108):126–34.
- Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. Биологические маркеры рака молочной железы: методологические аспекты и клинические рекомендации. *Маммология* 2005;1:65–9.
- Красильников М.А. Современные подходы к изучению механизма эстроген-независимого роста опухолей молочной железы. *Вопросы онкологии* 2004;50(4):399–405.
- Clarke R., Liu M.C., Bouker K.B. et al. Antiestrogen resistance in breast cancer and the role of estrogen receptor signaling. *Oncogene* 2003;22(47):7316–39.
- Lee M., Lee C.S., Tan P.H. Hormone receptor expression in breast cancer: postanalytical issues. *J Clin Pathol* 2013;66(6):478–84.
- Normanno N., Di Maio M., De Maio E. et al. Mechanisms of endocrine resistance and novel therapeutic strategies in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2005;12(4):721–47.
- Jordan V.C. Targeting antihormone resistance in breast cancer: a simple solution. *Ann Oncol* 2003;14(7):969–70.
- Jalava P., Kuopio T., Huovinen R. et al. Immunohistochemical staining of estrogen and progesterone receptors: aspects for evaluating positivity and defining the cutpoints. *Anticancer Res* 2005;25(3c):2535–42.
- Henderson B.E., Ponder B.A.J., Ross R.K. Hormones, genes, and cancer. New York: Oxford University Press, 2003.
- Берштейн Л.М. Современная эндокринология гормонозависимых опухолей. *Вопросы онкологии* 2002;48(4):496–504.
- Красильников М.А. Сигнальные пути, регулируемые фосфатидилинозит-3-киназой, и их значение для роста, выживаемости и злокачественной трансформации клеток. *Биохимия* 2000;65(1):68–78.
- Kurebayashi J. Endocrine-resistant breast cancer: underlying mechanisms and strategies for overcoming resistance. *Breast Cancer* 2003;10(2):112–9.
- Roop R.P., Ma C.X. Endocrine resistance in breast cancer: molecular pathways and rational development of targeted therapies. *Future Oncol* 2012;8(3):273–92.
- Garcia-Becerra R., Santos N., Diaz L. et al. Mechanisms of Resistance to Endocrine Therapy in Breast Cancer: Focus on Signaling Pathways, miRNAs and Genetically Based Resistance. *Int J Mol Sci* 2012;14(1):108–45.
- Laenkhölm A.V., Knoop A., Ejlersen B. et al. ESR1 gene status correlates with estrogen receptor protein levels measured by ligand binding assay and immunohistochemistry. *Mol Oncol* 2012;6(4):428–36.
- Conway K., Parrish E., Edmiston S.N. et al. Risk factors for breast cancer characterized by the estrogen receptor alpha A908G (K303R) mutation. *Breast cancer research: BCR* 2007;9(3):R36.
- Generali D., Berruti A., Brizzi M.P. et al. Hypoxia-inducible factor-1 α expression predicts a poor response to primary chemoendocrine therapy and disease-free survival in primary human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12(15):4562–8.
- Generali D., Buffa F.M., Berruti A. et al. Phosphorylated ER α , HIF-1 α , and MAPK signaling as predictors of primary endocrine treatment response and resistance in patients with breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27(2):227–34.
- Span P.N., Bussink J., Manders P. et al. Carbonic anhydrase-9 expression levels and prognosis in human breast cancer: association with treatment outcome. *Br J Cancer* 2003;89(2):271–6.
- Mabjeesh N.J., Amir S. Hypoxia-inducible factor (HIF) in human

- tumorigenesis. *Histol Histopathol* 2007;22(5):559–72.
21. Ke Q., Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol* 2006;70(5):1469–80.
 22. Kimbro K.S., Simons J.W. Hypoxia-inducible factor-1 in human breast and prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2006;13(3):739–49.
 23. Liao D., Johnson R.S. Hypoxia: a key regulator of angiogenesis in cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2007;26(2):281–90.
 24. Scherbakov A.M., Stefanova L.B., Sorokin D.V. et al. Snail/beta-catenin signaling protects breast cancer cells from hypoxia attack. *Exp Cell Res* 2013;319(20):3150–9.
 25. Stoner M., Saville B., Wormke M. et al. Hypoxia induces proteasome-dependent degradation of estrogen receptor alpha in ZR-75 breast cancer cells. *Mol Endocrinol* 2002;16(10):2231–42.
 26. Yi J.M., Kwon H.Y., Cho J.Y. et al. Estrogen and hypoxia regulate estrogen receptor alpha in a synergistic manner. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;378(4):842–6.
 27. Kurebayashi J., Otsuki T., Mori Y. et al. Hypoxia reduces hormone responsiveness of human breast cancer cells. *Jpn J Cancer Res* 2001;92(10):1093–101.
 28. Cho J., Kim D., Lee S. et al. Cobalt chloride-induced estrogen receptor alpha down-regulation involves hypoxia-inducible factor-1alpha in MCF-7 human breast cancer cells. *Mol Endocrinol* 2005;19(5):1191–9.
 29. Kronblad A., Hedenfalk I., Nilsson E. et al. ERK1/2 inhibition increases antiestrogen treatment efficacy by interfering with hypoxia-induced downregulation of ERalpha: a combination therapy potentially targeting hypoxic and dormant tumor cells. *Oncogene* 2005;24(45):6835–41.
 30. Park Y.M., Cho J.Y., Koo Y.D. et al. Effects of inhibiting the proteasomal degradation of estrogen receptor alpha on estrogen receptor alpha activation under hypoxic conditions. *Biol Pharm Bull* 2009;32(12):2057–60.
 31. Cho J., Bahn J.J., Park M. et al. Hypoxic activation of unoccupied estrogen-receptor-alpha is mediated by hypoxia-inducible factor-1 alpha. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006;100(1-3):18–23.
 32. Cooper C., Liu G.Y., Niu Y.L. et al. Intermittent hypoxia induces proteasome-dependent down-regulation of estrogen receptor alpha in human breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10(24):8720–7.
 33. Стефанова Л.Б., Щербаков А.М., Андреева О.Е. и др. Чувствительность к гипоксии культивируемых in vitro клеток рака молочной железы: роль аппарата рецептора эстрогенов. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии 2012;10:60–3.
 34. Franovic A., Gunaratnam L., Smith K. et al. Translational up-regulation of the EGFR by tumor hypoxia provides a nonmutational explanation for its overexpression in human cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007;104(32):13092–7.
 35. Swinson D.E., O'Byrne K.J. Interactions between hypoxia and epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2006;7(4):250–6.
 36. Nishi H., Nishi K.H., Johnson A.C. Early Growth Response-1 gene mediates up-regulation of epidermal growth factor receptor expression during hypoxia. *Cancer Res* 2002;62(3):827–34.
 37. Yamamoto Y., Ibusuki M., Okumura Y. et al. Hypoxia-inducible factor 1alpha is closely linked to an aggressive phenotype in breast cancer. *Breast cancer research and treatment* 2008;110(3):465–75.
 38. Higgins M.J., Baselga J. Targeted therapies for breast cancer. *J Clin Invest* 2011;121(10):3797–803.
 39. Osborne C.K., Schiff R. Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer. *Annu Rev Med* 2011;62:233–47.
 40. Stopeck A.T., Brown-Glaberman U., Wong H.Y. et al. The role of targeted therapy and biomarkers in breast cancer treatment. *Clin Exp Metastasis* 2012;29(7):807–19.
 41. Malaguti P., Vari S., Cognetti F. et al. The Mammalian target of rapamycin inhibitors in breast cancer: current evidence and future directions. *Anticancer Res* 2013;33(1):21–8.
 42. Normanno N., Morabito A., De Luca A. et al. Target-based therapies in breast cancer: current status and future perspectives. *Endocrine-related cancer* 2009;16(3):675–702.
 43. Mohd Shariar M.S., Crown J., Hennessy B.T. Overcoming resistance and restoring sensitivity to HER2-targeted therapies in breast cancer. *Ann Oncology* 2012;23(12):3007–16.
 44. Lundgren K., Holm C., Landberg G. Hypoxia and breast cancer: prognostic and therapeutic implications. *Cellular and molecular life sciences: CMLS* 2007;64(24):3233–47.
 45. Pouyssegur J., Dayan F., Mazure N.M. Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression. *Nature* 2006;441(7092):437–43.
 46. Semenza G.L. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003;3(10):721–32.
 47. Kajdaniuk D., Marek B., Foltyn W. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) – part 2: in endocrinology and oncology. *Endokrynol Pol* 2011;62(5):456–64.
 48. Bareschino M.A., Schettino C., Colantuoni G. et al. The role of antiangiogenic agents in the treatment of breast cancer. *Curr Med Chem* 2011;18(33):5022–32.
 49. Щербаков А.М., Герштейн Е.С., Ошкина Е.В. и др. Фосфорилированная киназа AKT1, фактор роста эндотелия сосудов и его рецепторы: внутриопухоле-
- вое содержание и прогностическое значение у больных раком молочной железы. Молекулярная медицина 2014;4:20–4.
50. Molitoris K.H., Kazi A.A., Koos R.D. Inhibition of oxygen-induced hypoxia-inducible factor-1alpha degradation unmasks estradiol induction of vascular endothelial growth factor expression in ECC-1 cancer cells in vitro. *Endocrinology* 2009;150(12):5405–14.
 51. Ruohola J.K., Valve E.M., Karkkainen M.J. et al. Vascular endothelial growth factors are differentially regulated by steroid hormones and antiestrogens in breast cancer cells. *Mol Cell Endocrinol* 1999;149(1-2):29–40.
 52. Bogin L., Degani H. Hormonal regulation of VEGF in orthotopic MCF7 human breast cancer. *Cancer Res* 2002;62(7):1948–51.
 53. Scherbakov A.M., Lobanova Y.S., Shatskaya V.A. et al. Activation of mitogenic pathways and sensitization to estrogen-induced apoptosis: two independent characteristics of tamoxifen-resistant breast cancer cells? *Breast Cancer Res Treat* 2006;100(1):1–11.
 54. Patel R.R., Sengupta S., Kim H.R. et al. Experimental treatment of oestrogen receptor (ER) positive breast cancer with tamoxifen and brivanib alaninate, a VEGFR-2/FGFR-1 kinase inhibitor: a potential clinical application of angiogenesis inhibitors. *European journal of cancer* 2010;46(9):1537–53.
 55. Kumar B.N., Rajput S., Dey K.K. et al. Celecoxib alleviates tamoxifen-instigated angiogenic effects by ROS-dependent VEGF/VEGFR2 autocrine signaling. *BMC Cancer* 2013;13:273.
 56. Qu Z., Van Ginkel S., Roy A.M. et al. Vascular endothelial growth factor reduces tamoxifen efficacy and promotes metastatic colonization and desmoplasia in breast tumors. *Cancer Res* 2008;68(15):6232–40.
 57. Acloque H., Adams M.S., Fishwick K. et al. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J Clin Invest* 2009;119(6):1438–49.
 58. Zeisberg M., Neilson E.G. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 2009;119(6):1429–37.
 59. Nieto M.A. Epithelial-Mesenchymal Transitions in development and disease: old views and new perspectives. *Int J Dev Biol* 2009;53(8–10):1541–7.
 60. De Wever O., Pauwels P., De Craene B. et al. Molecular and pathological signatures of epithelial-mesenchymal transitions at the cancer invasion front. *Histochem Cell Biol* 2008;130(3):481–94.
 61. Alves C.C., Carneiro F., Hoefler H. et al. Role of the epithelial-mesenchymal transition regulator Slug in primary human cancers. *Front Biosci* 2009;14:3035–50.
 62. Becker K.F., Rosivatz E., Blechschmidt K. et al. Analysis of the E-cadherin repressor Snail in primary human cancers. *Cells Tissues Organs* 2007;185(1–3):204–12.

63. Come C., Arnoux V., Bibeau F. et al. Roles of the transcription factors snail and slug during mammary morphogenesis and breast carcinoma progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2004;9(2):183–93.
64. Hugo H.J., Kokkinos M.I., Blick T. et al. Defining the E-cadherin repressor interactome in epithelial-mesenchymal transition: the PMC42 model as a case study. *Cells Tissues Organs* 2011;193(1-2):23–40.
65. Blechschmidt K., Kremmer E., Hollweck R. et al. The E-cadherin repressor snail plays a role in tumor progression of endometrioid adenocarcinomas. *Diagn Mol Pathol* 2007;16(4):222–8.
66. Park S.H., Cheung L.W., Wong A.S. et al. Estrogen regulates Snail and Slug in the down-regulation of E-cadherin and induces metastatic potential of ovarian cancer cells through estrogen receptor alpha. *Mol Endocrinol* 2008;22(9):2085–98.
67. Ye Y., Xiao Y., Wang W. et al. ERalpha suppresses slug expression directly by transcriptional repression. *Biochem J* 2008;416(2):179–87.
68. Dhasarathy A., Kajita M., Wade P.A. The transcription factor snail mediates epithelial to mesenchymal transitions by repression of estrogen receptor-alpha. *Mol Endocrinol* 2007;21(12):2907–18.
69. Fujita N., Jaye D.L., Kajita M. et al. MTA3, a Mi-2/NuRD complex subunit, regulates an invasive growth pathway in breast cancer. *Cell* 2003;113(2):207–19.
70. Scherbakov A.M., Andreeva O.E., Shatskaya V.A. et al. The relationships between snail1 and estrogen receptor signaling in breast cancer cells. *J Cell Biochem* 2012;113(6):2147–55.
71. Andreeva O.E., Scherbakov A.M., Shatskaia V.A. et al. The role of transcription factor Snail1 in the regulation of hormonal sensitivity of in vitro cultured breast cancer cells. *Voprosy onkologii* 2012;58(1):71–6.
72. Geradts J., de Herreros A.G., Su Z. et al. Nuclear Snail1 and nuclear ZEB1 protein expression in invasive and intraductal human breast carcinomas. *Hum Pathol* 2011;42(8):1125–31.
73. Zhou G., Dada L.A., Wu M. et al. Hypoxia-induced alveolar epithelial-mesenchymal transition requires mitochondrial ROS and hypoxia-inducible factor 1. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009;297(6):L1120–1130.
74. Kim W.Y., Perera S., Zhou B. et al. HIF2alpha cooperates with RAS to promote lung tumorigenesis in mice. *J Clin Invest* 2009;119(8):2160–70.
75. Moen I., Oyan A.M., Kalland K.H. et al. Hyperoxic treatment induces mesenchymal-to-epithelial transition in a rat adenocarcinoma model. *PLoS One* 2009;4(7):e6381.
76. Hill R.P., Marie-Egyptienne D.T., Hedley D.W. Cancer stem cells, hypoxia and metastasis. *Semin Radiat Oncol* 2009;19(2):106–11.
77. Lundgren K., Nordenskjold B., Landberg G. Hypoxia, Snail and incomplete epithelial-mesenchymal transition in breast cancer. *Br J Cancer* 2009;101(10):1769–81.
78. Щербakov А.М., Стефанова Л.Б., Андреева О.Е. и др. Роль Snail-сигнального пути в развитии устойчивости к гипоксии клеток рака молочной железы. *Технологии живых систем* 2012;9(9):63–7.
79. Mak P., Leav I., Pursell B. et al. ERbeta impedes prostate cancer EMT by destabilizing HIF-1alpha and inhibiting VEGF-mediated snail nuclear localization: implications for Gleason grading. *Cancer Cell* 2010;17(4):319–32.
80. Hartman J., Lindberg K., Morani A. et al. Estrogen receptor beta inhibits angiogenesis and growth of T47D breast cancer xenografts. *Cancer Res* 2006;66(23):11207–13.
81. Mosselman S., Polman J., Dijkema R. ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS letters* 1996;392(1):49–53.
82. Leitman D.C., Paruthiyil S., Vivar O.I. et al. Regulation of specific target genes and biological responses by estrogen receptor subtype agonists. *Curr Opin Pharmacol* 2010;10(6):629–36.
83. Fox E.M., Davis R.J., Shupnik M.A. ERbeta in breast cancer--onlooker, passive player, or active protector? *Steroids* 2008;73(11):1039–51.
84. Murphy L.C., Watson P.H. Is oestrogen receptor-beta a predictor of endocrine therapy responsiveness in human breast cancer? *Endocrine-related cancer* 2006;13(2):327–34.
85. Li W., Winters A., Poteet E. et al. Involvement of estrogen receptor beta5 in the progression of glioma. *Brain Res* 2013;1503:97–107.
86. Al-Bader M.D., Malatiali S.A., Redzic Z.B. Expression of estrogen receptor alpha and beta in rat astrocytes in primary culture: effects of hypoxia and glucose deprivation. *Physiol Res* 2011;60(6):951–60.
87. Lim W., Park Y., Cho J. et al. Estrogen receptor beta inhibits transcriptional activity of hypoxia inducible factor-1 through the downregulation of arylhydrocarbon receptor nuclear translocator. *Breast Cancer Res: BCR* 2011;13(2):R32.
88. Lim W., Cho J., Kwon H.Y. et al. Hypoxia-inducible factor 1 alpha activates and is inhibited by unoccupied estrogen receptor beta. *FEBS letters* 2009;583(8):1314–8.
89. Mak P., Chang C., Pursell B. et al. Estrogen receptor beta sustains epithelial differentiation by regulating prolyl hydroxylase 2 transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2013;110(12):4708–13.
90. Hartman J., Strom A., Gustafsson J.A. Estrogen receptor beta in breast cancer – diagnostic and therapeutic implications. *Steroids* 2009;74(8):635–41.
91. Zhao C., Lam E.W., Suinters A. et al. Expression of estrogen receptor beta isoforms in normal breast epithelial cells and breast cancer: regulation by methylation. *Oncogene* 2003;22(48):7600–6.
92. Pettersson K., Delaunay F., Gustafsson J.A. Estrogen receptor beta acts as a dominant regulator of estrogen signaling. *Oncogene* 2000;19(43):4970–8.
93. Murphy L.C., Leygue E., Niu Y. et al. Relationship of coregulator and oestrogen receptor isoform expression to de novo tamoxifen resistance in human breast cancer. *Br J Cancer* 2002;87(12):1411–6.
94. Iwase H., Zhang Z., Omoto Y. et al. Clinical significance of the expression of estrogen receptors alpha and beta for endocrine therapy of breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003;52 Suppl 1:S34–38.
95. Rody A., Holtrich U., Solbach C. et al. Methylation of estrogen receptor beta promoter correlates with loss of ER-beta expression in mammary carcinoma and is an early indication marker in premalignant lesions. *Endocrine-related cancer* 2005;12(4):903–16.
96. Stone A., Valdes-Mora F., Gee J.M. et al. Tamoxifen-induced epigenetic silencing of oestrogen-regulated genes in anti-hormone resistant breast cancer. *PLoS One* 2012;7(7):e40466.
97. Alayev A., Holz M.K. mTOR signaling for biological control and cancer. *J Cell Physiol* 2013;228(8):1658–64.
98. Красильников М.А., Жуков Н.В. Сигнальный путь mTOR: новая мишень терапии опухолей. *Современная онкология* 2010;12(2):9–16.
99. Walsh S., Flanagan L., Quinn C. et al. mTOR in breast cancer: differential expression in triple-negative and non-triple-negative tumors. *Breast* 2012;21(2):178–82.
100. Семглазова Т.Ю., Семглазов В.В., Филатова Л.В. и др. Новый подход преодолению резистентности к гормонотерапии рака молочной железы. *Фарматека* 2012;18:50–6.
101. Vilquin P., Villedieu M., Grisard E. et al. Molecular characterization of anastrozole resistance in breast cancer: pivotal role of the Akt/mTOR pathway in the emergence of de novo or acquired resistance and importance of combining the allosteric Akt inhibitor MK-2206 with an aromatase inhibitor. *Int J Cancer (Journal international du cancer)* 2013;133(7):1589–602.
102. Arsham A.M., Howell J.J., Simon M.C. A novel hypoxia-inducible factor-independent hypoxic response regulating mammalian target of rapamycin and its targets. *J Biol Chem* 2003;278(32):29655–60.
103. Koo J.S., Jung W. Alteration of REDD1-mediated mammalian target of rapamycin pathway and hypoxia-inducible factor-1alpha regulation in human breast cancer. *Pathobiology* 2010;77(6):289–300.
104. DeYoung M.P., Horak P., Sofer A. et al. Hypoxia regulates TSC1/2-mTOR signaling

and tumor suppression through REDD1-mediated 14-3-3 shuttling. *Genes Dev* 2008;22(2):239–51.

105. Connolly E., Braunstein S., Formenti S. et al. Hypoxia inhibits protein synthesis through a 4E-BP1 and elongation factor 2 kinase pathway controlled by mTOR and uncoupled in breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 2006;26(10):3955–65.

106. Miller T.W., Rexer B.N., Garrett J.T. et al. Mutations in the phosphatidylinositol 3-kinase pathway: role in tumor progression and therapeutic implications in breast cancer. *Breast Cancer Res: BCR* 2011;13(6):224.

107. Liu L., Cash T.P., Jones R.G. et al. Hypoxia-induced energy stress regulates mRNA translation and cell growth. *Mol Cell* 2006;21(4):521–31.

108. Inoki K., Zhu T., Guan K.L. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell* 2003;115(5):577–90.

109. Ollila S., Makela T.P. The tumor suppressor kinase LKB1: lessons from mouse models. *J Mol Cell Biol* 2011;3(6):330–40.

110. Shackelford D.B., Shaw R.J. The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumour suppression. *Nat Rev Cancer* 2009;9(8):563–75.

111. Sato T., Nakashima A., Guo L. et al. Single amino-acid changes that confer constitutive activation of mTOR are discovered in human cancer. *Oncogene* 2010;29(18):2746–52.

112. Fenton H., Carlile B., Montgomery E.A. et al. LKB1 protein expression in human breast cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2006;14(2):146–53.

113. Korsse S.E., Peppelenbosch M.P., van Veele W. Targeting LKB1 signaling in cancer. *Biochimica et biophysica acta* 2013;1835(2):194–210.