

The epidemiology of chemoresistance in breast cancer therapy

V. Fulga

Department of Histology, Cytology and Embryology
Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: vmfulga@usmf.md. Manuscript received February 18, 2015; accepted April 02, 2015

Abstract

Background: Breast cancer is the most common cancer and the leading cause of cancer death in women. Despite advances in early detection and the understanding of the molecular bases of breast cancer biology, about 30% of patients with primary breast cancer have recurrent disease. The rates of local and systemic recurrence vary within different studies, but distant recurrences are dominant. In order to offer more effective and less toxic treatment, the selection of therapies requires considering the clinical and molecular characteristics of the tumor. Nowadays, systemic treatment of breast cancer includes cytotoxic, hormonal and immunotherapeutic agents. These medications are used in the adjuvant, neoadjuvant, and metastatic settings. In general, systemic agents are active at the beginning of therapy in 90% of primary breast cancers and 50% of cases with metastases. However, after a variable period of time, progression occurs. So, resistance to therapy is not only common, but also expected. The aim of this article was to review general mechanisms of drug resistance, including multidrug resistance by P-glycoprotein, emergence of refractory tumors associated with multiple resistance mechanisms and resistance factors characteristic to host-tumor-drug interactions. The most important anticancer agents specific to breast cancer are described.

Conclusions: In spite of multiple studies and different schemes of chemotherapy, 30% of patients with early diagnosed mammary carcinomas develop recurrences during disease history. The majority of recurrences are developing in cases with lymph node metastases. Treatment resistance is caused by multiple factors, is frequently unforeseeable and the most important reason of its development is existence of multiple subtypes of breast carcinoma.

Key words: breast carcinoma, therapy, resistance.

Epidemiologia chimiorezistenței în terapia cancerului mamar

Introducere

Incidența cancerului mamar în lume a înregistrat, în ultimii 4 ani, o creștere de circa 20%, iar mortalitatea – de 14%. În 140 de țări ale lumii (din 184), această tumoră reprezintă cel mai frecvent tip de cancer diagnosticat la femei, care are și cea mai înaltă rată (16%) în structura mortalității. În Republica Moldova, cancerul de sân ocupă locul 2, după cel colorectal, înregistrând cote de circa 12% din totalul tumorilor maligne diagnosticate. Multipli factori de risc au fost identificați, precum vârsta, statutul socioeconomic, arealul geografic, stilul de viață, anamneza eredocolaterală agravată, radiația ionizantă, densitatea țesutului osos, nivelul sporit de IGF-1 și prolactină, utilizarea contraceptivelor [1, 2]. În pofida multiplelor realizări, terapia de succes rămâne a fi o provocare pentru contemporaneitate.

Tratamentul cancerului de sân include procedee chirurgicale, tratament sistemic și radioterapie. Tratamentul sistemic contemporan include agenți citotoxici, hormonal și imuni, indicați în componența terapiei adjuvante și neoadjuvante.

Tratamentul adjuvant este recomandat pacientelor cu risc semnificativ de recurențe după rezecția chirurgicală primară a tumorii și nodulilor limfatici axilari, în scopul de a diminua posibilitatea dezvoltării micrometastazelor. Multiple studii au demonstrat că acest tip de terapie crește cu circa 11% rata supraviețuirii de 10 ani la pacientele aflate în premenopauză și 3% - la cele în postmenopauză. Antraciclinele sunt administrate cu predilecție, iar suplimentarea cu taxani crește rata supraviețuirii în cazurile "lymph-node" pozitive. Asocierea hormonoterapiei aduce un beneficiu la circa 2/3 paciente cu tumori hormon-pozitive. Tamoxifenul este drog de elecție, administrat pacien-

telor în premenopauză, iar inhibitorul aromatazei, anastrozolul s-a dovedit a fi mai efektiv în postmenopauză [3].

Terapia sistemică neoadjuvantă este considerată drept standard de tratament pentru cazurile avansate, inclusiv pentru cele cu un component inflamator pronunțat. Răspunsul la terapia neoadjuvantă, în tumora primară și în metastaze corelează cu rata de supraviețuire, iar procentul răspunsului pozitiv (definit și ca rata remisiei patologice complete) la terapia neoadjuvantă variază în limitele de 6-15% la utilizarea antraciclinelor și circa 30% în cazul taxanilor [3]. După Goldhirsch et al., terapia neoadjuvantă nu are careva avantaje față de cea adjuvantă, grație absenței datelor comparative privind rata de supraviețuire [4].

Utilizarea terapiei sistemice paliative este una provocatoare. Circa 5% din cazurile noi diagnosticate sunt metastatice, iar la 30% din cazurile tratate se înregistrează recurențe [5, 6]. Procesul metastatic odată dezvoltat, reduce drastic curabilitatea. Astfel, supraviețuirea de 5 ani s-a raportat la doar 20% pacienți, iar media duratei de supraviețuire constituie 1-2 ani [7]. Chimioterapia este indicată la circa 60% din pacienți cu cancer mamar incipient, reducând cu 1/3 riscul metastazelor la distanță [8, 9].

Rezistența la terapia sistemică

Utilizarea medicamentelor *per ansamblu* este una efektivă, raportată benefic la circa 90% din cancerele de sân primare și la 50% din cele însoțite cu metastaze. Aceasta se manifestă prin ameliorarea simptomaticei, reducerea volumului tumorii, diminuarea nivelului seric al markerilor tumorali. Răspunsul cancerului agravat cu metastaze la monoterapie, s-a dovedit a fi variat, dependent de studiu. Astfel pentru docetaxel, rata răspunsului pozitiv a variat în limitele 18-68%, paclitaxel 17-54%, vinorelbina 25-47%, tamoxifen 21-41%, doxorubicină 25-40%, gemcitabină 14-37%, trastuzumab 12-34%, inhibitori ai aromatazei 10-20% [3, 10, 11]. Întru micșorarea riscului de dezvoltare a rezistenței au fost adoptate un șir de combinații terapeutice [12], însă carcinomul mamar continuă să dezvolte rezistență, iar eșecul este atribuit naturii multifactoriale a carcinogenezei.

Rezistența la medicamente este considerată drept complicație severă în chimioterapia cancerului. Pot fi deosebite 2 forme: 1. dobândită – la care terapia inițial este eficientă și pe parcurs tumora devine rezistentă; 2. intrinsecă – unde în pofida tratamentului realizat, tumora continuă să crească, fenomen numit și rezistență primară la terapie [13].

Teorii, care ar putea explica rezistența terapeutică, au fost multiple, iar mecanismele rezistenței la terapia sistemică pot fi divizate în:

Mecanisme celulare și biochimice:

1. acumularea redusă de medicament la nivelul tumorii datorită influxului redus de drog sau refluxului lui sporit, traficului intracelular alterat;
2. inactivarea rapidă a drogului de către organismul gazdă;
3. toleranță sporită la medicament datorită defectelor de membrană, proteice sau ADN;
4. activare diminuată a medicamentului la pacientul dat;
5. alterarea „șintelor” drogului dat (calitative și cantitative), la nivel de cofactori și metaboliți;

6. alterarea căilor de semnalizare și mecanismelor de apoptoză, prin deleții, amplificări, alterări de transcripție și translație, instabilitatea crescută a macromoleculilor.

Mecanisme *in vivo*

7. barierele anatomice ale gazdei și proprietățile farmacologice ale drogului.

La nivelul glandei mamare în normă nu există bariere histologice bine definite. Totuși, în încercarea de a stăvili metastaza organismul dezvoltă un șir de evenimente-structuri, clasificate în:

- a. Fizice (membrane bazale).
- b. Chimice (forme reactive de oxigen, hipoxie și PH acid). Acestea sunt mai accentuate în cazul tumorilor mari, grație vascularizării diminuate în centrul neoplasmului [14]. În răspuns la astfel de factori de „stres”, celulele tumorale produc un șir de citokine proangiogene, nu tocmai în favoarea pacientului.
- c. Biologice (celule imunocompetente, citokine, în special cele cu funcții inhibitorii, peptide reglatorii ale matricei extracelulare).

8. Interacțiuni medicament-gazdă: activare diminuată sau inactivare sporită a drogului de către celulele normale, sensibilitatea crescută a țesuturilor normale (exprimată prin toxicitate înaltă la pacientul în cauză). S-au raportat în rezistența tumorii și influența unui șir de factori aparent normali din microambianța țesutului conjunctiv (fibroblaste, celule endoteliale, imune, matrice extracelulară) [15, 16, 17]. Dat fiind faptul că țesutul adipos conține celule stem pluripotente cu efect stimulator asupra angiogenezei tumorale, este pe larg mediatizat rolul țesutului adipos drept cauză posibilă a recurențelor [18]. Prezența limfocitelor asociate tumorii este un indice predictiv independent în favoarea utilizării antraciclinelor și taxanilor în tratamentul neoadjuvant [19]. În cazurile ER și Her2 negative, asociate cu metastaze, asocierea infiltrației limfocitare în decursul tratamentului este considerat de Loi et al. drept indice excelent de prognostic [20].

În pofida existenței diferitor mecanisme de dezvoltare, rezistența la un medicament nu este una strict specifică. Astfel, mutațiile genei p53 și în consecință dereglarea apoptozei este mecanismul cel mai frecvent al chimiorezistenței pentru majoritatea drogurilor. Alterarea topoizomerazei-II conduce la alterarea țintelor pentru etopozidă, doxorubicină, 5-FU, iar repararea sporită a ADN-ului este, deseori, cauza ineficienței agenților de alchilare și derivaților de platină. Grație activității reduse a deoxicitidin kinazei și folil-poliglutamil sintetazei nu sunt activate fludarabina și cladribina. Amplificarea genică MDR (*multidrug resistance*) a fost raportată drept cauza ineficienței doxorubicinei, etopozidei, paclitaxelului, alcaloizilor de Vinca.

Rezistența MDR (*multidrug resistance*)

Pentru prima dată MDR classic (*P-Glycoprotein dependent*) a fost descris pentru evidențierea rezistenței încrucișate la un șir de medicamente, precum puomicina, mitomicina C, alcaloizi de Vinca după utilizarea primară a actinomicinei D. Acest tip de rezistență, numit și fenotip MDR, a fost ulterior determinat și în cazul antraciclinelor. Sunt definite câteva

mecanisme de dezvoltare a MDR. Inițial apariția MDR a fost definită prin expresia majoră a unei P-glicoproteine membranare (P-170 sau proteina MRP1 (*multidrug resistance protein 1*)). Pe parcurs, au fost descoperite încă 5 izoforme de MRP (*multiple resistance proteins*), în particular descrise MRP2 și MRP3, pentru rolul lor accentuat în eliminarea doxorubicinei, cisplatinei și metotrexatului. Proteinelor MRP li se atribuie rolul de evacuare în exces a drogurilor printr-un proces energo-dependent, astfel micșorându-i doza necesară în punctul de acțiune. Ulterior însă, s-a demonstrat că MRP proteinele sunt veriga a 3-a, finală a MDR procesului. Activarea în exces a citocromului P-450 și formarea în exces a metabolizilor conjugați cu glutatationul și acidul glucuronic sunt primele 2 mecanisme de dezvoltare a MDR.

Un alt mecanism de dezvoltare a MDR este alterarea topoizomerazelor de ambele tipuri, I și II. Discutabil la moment este rolul în MDR a altor clase de proteine, precum BCRP (*breast cancer resistance protein*) și LRP (*lung resistance protein*).

În scopul de a evita rezistența la terapie, sunt dezvoltate medicamente cu funcții multiple. Astfel doxorubicina, care de rând cu afectarea ADN-ului prin diverse mecanisme proprii antraciclinelor, mai dezvoltă citotoxicitate prin formare de radicali liberi. La moment, s-au determinat 2 mecanisme de rezistență a tumorii la radicalii liberi și anume:

1. Formarea diminuată a anionilor de superoxid grație hipoxiei țesutului în centrul tumorilor solide mari.
2. Cantitatea sporită de catalază și glutatation peroxidază în celulele tumorale, ceea ce diminuează formarea radicalilor toxici.

Totuși, în pofida asocierii în chimioterapia medicamentelor cu diferit mecanism de acțiune, recurențele frecvente au sugerat, că apariția MDR are loc datorită multiplelor defecte genetice într-o singură clonă celulară.

În marea majoritate, medicamentele destinate pentru tratamentul cancerului își îndeplinesc acțiunea antitumorală prin intermediul apoptozei. Moartea celulară programată este modulată genetic, expresia căreia fiind câteva familii proteice, precum p53 și BCL-2. În normă, la afectarea ADN-ului celula răspunde prin activarea p53, rezultând cu repararea sau mai frecvent cu inițierea apoptozei. Familia BCL-2 este eterogenă, iar soarta celulei depinde de balanța expresiei membrilor anti-apoptotici (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w, A1 și Mcl-1) și proapoptotici (Bax, Bak, Bad, Bik și Bid). Astfel, mutațiile genomului pot genera clustere de celule rezistente la terapie, caracterizate printr-un comportament agresiv în evoluția bolii.

Mecanismele rezistenței la tratamentul hormonal

După Osborne et al. se disting 5 tipuri generale de rezistență la terapie endocrină [21]:

De novo. Absența sau conținutul scăzut al receptorilor ER (estrogen) și/sau PR (progesteron) explică rezistența primară la tratament.

Achiziționată pe parcursul tratamentului. Tumora inițial sensibilă, la o anumită etapă a terapiei anticanceroase devine rezistentă la preparatul dat.

Pierderea sensibilității la estrogen grație pierderii receptorilor ER în urma tratamentului. Utilizarea secvențială a

estrogenului duce la reapariția receptorilor ER, permițând astfel prelungirea tratamentului hormonal.

Păstrarea dependenței de estrogen în pofida prezenței receptorilor ER și blocarea acestora cu tamoxifen.

Tumoare estrogen dependentă, care progresaază în pofida terapiei specifice. Mecanismele probabile sunt: a. activarea căilor intracelulare cofactori-dependente, adiționale receptorilor ER; b. existența multiplelor clone de celule tumorale, inclusiv ER negative în același neoplasm.

Modulatorii selectivi de estrogen receptor, precum tamoxifenul acționează prin fixarea receptorilor estrogenici (ER) și astfel antagonizează acțiunea estrogenilor asupra ADN [22]. Fulvestrant este un antiestrogen nou, care nu numai că blochează receptorul ER, dar și induce degradarea acestuia [23].

Dat fiind faptul că ER este influențat de un șir de factori de creștere, explică de ce tamoxifenul s-a dovedit a fi mai puțin efektiv în tumorile ER și Her2 pozitive. Discutabilă este ipoteza despre existența coactivatorilor. În particular, s-a observat că celulele tumorale de clonă MCF-7 inițial sunt blocate, dar la tratament îndelungat tumoarea nu numai că nu regresează, dar devine tamoxifen-dependență. Este demonstrat faptul că complexul estrogen-receptor ER poate forma dimeri cu alți receptori monomeri, activând sau blocând anumite gene. În astfel de cazuri, estrogenul se comportă funcțional ca un coregulator [24]. Au fost descrise mai multe forme de coregulatori, însă cel mai frecvent, în 2/3 cazuri de cancer mamar, se întâlnește supraexpresia AIB1 (sau SRC-3). După Osborne et al, această cauză stă și la baza rezistenței la tamoxifen [25]. Inițial, mutațiile genetice ER întâlnite la 1% dintre pacienți au servit drept explicație a variabilității răspunsului la pacienții cu tumori ER pozitive. Recent, s-au descris mutații la nivel de genă-ESR1, care codifică domeniul de fixare (*ligand-binding domain*) a receptorului ER pentru estrogen [21]. S-au determinat 3 tipuri de mutații la acest nivel:

1. Amplificarea genică, cu formarea de copii multiple ale ESR1.

2. Translocația, în care o parte din gena, care codifică receptorul ER, este schimbată aleatoriu, neobișnuit cu diverse părți din genom.

3. Mutația punctiformă la domeniul activ al ER captator de estrogen. Mutația dată blochează receptorul ER, menținându-l într-o formă stabil activă și stimulând în permanență celula tumorală, în pofida lipsei de estrogen. Aceasta este și cauza rezistenței la inhibitorii de aromatază.

Important este faptul că aceste mutații s-au determinat doar în metastaze (la 6 din 11 pacienți tratați cu inhibitori de aromatază), fiind absente în tumorile primare.

Odată cu blocarea receptorului ER, celula tumorală drept acomodare la tratament își schimbă calea pentru supraviețuire. Drept exemplu elocvent servesc cazurile frecvent întâlnite de tratament efektiv cu inhibitori de aromatază, introduși după apariția rezistenței la tamoxifen. Important de notat că utilizarea secvențială în tratament a estrogenului poate stopa apariția rezistenței și recurențelor pe termen lung. De asemenea, s-au raportat un șir de cazuri de „shift”-

transfer al tumorii de la ER⁺ la Her2⁺ și invers, drept răspuns la tratamentul efectuat [26]. În asemenea cazuri, cei mai proeminenți factori ce contribuie la „susținerea tumorii” sunt receptorii tirozin-kinazici EGFR (sau HER1) și Her2. Ca rezultat, multiple scheme de tratament includ gefitinibul (antagonist HER1) și herceptina (blocator HER2) de rând cu tamoxifenul sau inhibitorii de aromatază în speranța de a evita dezvoltarea chimiorezistenței.

Pe de altă parte, pierderea expresiei receptorului PR (progesteron) în decursul terapiei endocrine este mult mai frecventă decât a ER. În astfel de cazuri, tumora devine mai agresivă, iar prognosticul mult mai nefavorabil. Sursa acestui fenomen ține de supraactivarea mecanismului intracelular de semnalizare PI3K, soldat cu supresia receptorilor ER și PR.

O altă cauză de rezistență la tratament, raportată la inhibarea/blocarea ER este receptorul androgenic (AR), prin care factorii de creștere pot stimula proliferarea tumorii [27].

În pofida tacticii terapeutice aparent rafinate, la circa 30% din pacientele supuse terapiei endocrine, tumora devine rezistentă pe parcursul tratamentului [28].

Rezistența la tratamentul imun

Trastuzumabul este un anticorp monoclonal umanizat, ce posedă afinitate înaltă la domeniul extracelular Her2. Supresia acestui receptor induce apoptoza, inhibă calea de semnalizare Her2 intracelulară, manifestă acțiune celulară toxică anticorp-mediată. Mecanismele de rezistență descrise sunt: supraproducerea de IGFs (*insulin-like growth factors*), în particular IGF-1, dereglarea kinazei ciclin-dependente p27, supraexpresia receptorului EGFR (*epidermal growth factor receptor 1* sau HER-1), funcție diminuată a genei oncosupresoare PTEN (*phosphatase and tensin homolog*) [29].

Concluzii

În pofida multiplelor studii și chimioterapiei de durată, circa 30% dintre pacienții diagnosticați cu forme precoce de carcinom mamar dezvoltă recurențe în evoluția bolii, cota majoră revenind cazurilor cu metastaze limfonodale dezvoltate. Rezistența la tratament este multifactorială, deseori impredictibilă, cel mai probabil datorat multiplelor subtipuri de carcinom mamar.

Referințe bibliografice

- Dedeurwaerder S, Fumagalli D, Fuks F. Unravelling the epigenomic dimension of breast cancers. *Curr Opin Oncol*. 2011;23(6):559-565.
- Iorio MV, Casalini P, Piovon C, et al. Breast cancer and microRNAs: therapeutic impact. *Breast*. 2011;20 (Suppl 3):S63-S70.
- Buzdar AU. Data from the Arimidex, tamoxifen, alone or in combination (ATAC) trial: Implications for use of aromatase inhibitors in 2003. *Clin Cancer Res*. 2004;10:355S-361S.
- Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, et al. Meeting Highlights: Updated International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2003;21:3357-3365.
- Jemal A, Murray T, Samuels A, et al. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2003;53:5-26.
- Pisani P, Bray F, Parkin DN. Estimates of the worldwide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population. *Int J Cancer*. 2002;97:72-81.
- Cardoso F, Di Leo A, Lohrisch C, et al. Second and subsequent lines of chemotherapy for metastatic breast cancer: What did we learn in the last two decades? *Annals Oncol*. 2002;13:197-207.
- Colombo PE, Milanezi F, Weigelt B, et al. Microarrays in the 2010s: the contribution of microarray-based gene expression profiling to breast cancer classification, prognostication and prediction. *Breast Cancer Res*. 2011;13(3):212.
- van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*. 2002;415(6871):530-536.
- Ellis MJ, Rosen E, Dressman H, et al. Neoadjuvant comparisons of aromatase inhibitors and tamoxifen: Pretreatment determinants of response and on-treatment effect. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2003;86:301-307.
- Huober J, Krainick-Strobel U, Kurek R, et al. Neoadjuvant endocrine therapy in primary breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2004;5:341-347.
- Thomas E, Holmes FA, Smith TL, et al. The use of alternate, noncross-resistant adjuvant chemotherapy on the basis of pathologic response to a neoadjuvant doxorubicin-based regimen in women with operable breast cancer: Long-term results from a prospective randomized trial. *J Clin Oncol*. 2004;22:2294-2302.
- Florea AM, Busselberg D. Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects. *Cancers*. 2011;3(1):20.
- Suva LJ, Griffin RJ, Makhoul I. Mechanisms of bone metastases of breast cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2009;16(3):703-13.
- Generali D, Berruti A, Brizzi MP, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha expression predicts a poor response to primary chemoendocrine therapy and disease-free survival in primary human breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12:4562-8.
- Helleman J, Jansen MP, Ruigrok-Ritstier K, et al. Association of an extracellular matrix gene cluster with breast cancer prognosis and endocrine therapy response. *Clin Cancer Res*. 2008;14:5555-64.
- Jansen MP, Foekens JA, van Staveren IL, et al. Molecular classification of tamoxifen-resistant breast carcinomas by gene expression profiling. *J Clin Oncol*. 2005;23:732-40.
- Bertolini F. Adipose tissue and breast cancer progression: a link between metabolism and cancer. *The Breast*. 2013;22(Suppl 2):S48-9.
- Denkert C, Loibl S, Noske A, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28:105-113.
- Loi S, Sirtaine N, Piette F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol*. 2013;31:860-867.
- Jeselson R, Yelensky R, Buchwalter G, et al. Emergence of constitutively active estrogen receptor- α mutations in pretreated advanced estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2014;20(7):1757-67.
- Jordan VC, Brodie AM. Development and evolution of therapies targeted to the estrogen receptor for the treatment and prevention of breast cancer. *Steroids*. 2007;72:7-25.
- Dowsett M, Nicholson RI, Pietras RJ. Biological characteristics of the pure antiestrogen fulvestrant: overcoming endocrine resistance. *Breast Cancer Res Treat*. 2005;93 (Suppl 1):S11-8.
- Schiff R, Osborne CK, Fuqua SA. Clinical Aspects of Estrogen and Progesterone Receptors, in: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, editors. *Diseases of the Breast 4th Edition*. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2009:408-30.
- Osborne CK, Bardou V, Hopp TA, et al. Role of the estrogen receptor coactivator AIB1 (SRC-3) and HER-2/neu in tamoxifen resistance in breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95:353-61.
- Creighton CJ, Massarweh S, Huang S, et al. Development of resistance to targeted therapies transforms the clinically associated molecular profile subtype of breast tumor xenografts. *Cancer Res*. 2008;68:7493-501.
- De Amicis F, Thirugnansampanthan J, Cui Y, et al. Androgen receptor overexpression induces tamoxifen resistance in human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;121:1-11.
- Gutierrez MC, Detre S, Johnston S, et al. Molecular changes in tamoxifen-resistant breast cancer: relationship between estrogen receptor, HER-2, and p38 mitogen-activated protein kinase. *J Clin Oncol*. 2005;23:2469-76.
- Esteva FJ. Monoclonal antibodies, small molecules, and vaccines in the treatment of breast cancer. *Oncologist*. 2004;9(Suppl 3):4-9.