

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2023-10-4-47-60>

Интеграция сигнальных каскадов фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$): роль в реализации терапевтической неэффективности тамоксифена

Н.Н. Бабышкина^{1,2}, И.А. Узьянбаев², Т.А. Дронова¹, Н.В. Чердынцева¹

¹Научно-исследовательский институт онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; Россия, 634009 Томск, пер. Кооперативный, 5;

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России»; Россия, 634050 Томск, Московский тракт, 2

Контакты: Наталия Николаевна Бабышкина nbabyshkina@mail.ru

Функционирование сигнальных каскадов факторов роста, их взаимодействие с центральными регуляторными мишенями опухолевых клеток и эстрогенами рассматриваются в качестве основных механизмов, опосредующих развитие гормональной резистентности при раке молочной железы. Результатом интеграции сигнального пути трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) и PI3K (фосфоинозитид-3-киназа)/Akt (протеинкиназа B)/mTOR (мишень рапамицина млекопитающих) может являться активация пролиферативных процессов в клетках молочной железы и, как следствие, неэффективный ответ на терапию и прогрессирование заболевания. В обзоре представлен систематический анализ данных литературы, посвященной роли TGF- $\beta 1$ -сигнального пути в механизмах резистентности к тамоксифену в аспекте взаимодействия с каскадом PI3K/Akt/mTOR. Рассмотрены особенности взаимодействия сигнального пути рецепторов эстрогенов α , механизмы регуляторной активации TGF- $\beta 1$ и PI3K/Akt/mTOR, а также их вклад в реализацию ответа на тамоксифен. Непосредственное вовлечение TGF- $\beta 1$ /PI3K в развитие устойчивости к данному препарату определяет перспективы изучения белков-эффекторов этих каскадов в качестве молекулярных мишеней. Накопленные к настоящему времени данные позволяют рассматривать сигнальный путь TGF- $\beta 1$ /PI3K как потенциальный молекулярный инструмент для поиска эффективных стратегий блокирования резистентности опухолевых клеток к тамоксифену.

Ключевые слова: трансформирующий фактор роста $\beta 1$, PI3K/Akt/mTOR, рак молочной железы, эстрогеновые рецепторы, тамоксифен, резистентность

Для цитирования: Бабышкина Н.Н., Узьянбаев И.А., Дронова Т.А., Чердынцева Н.В. Интеграция сигнальных каскадов фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$): роль в реализации терапевтической неэффективности тамоксифена. Успехи молекулярной онкологии 2023;10(4):47–60. DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2023-10-4-47-60>

Integration of phosphoinositide 3-kinase (PI3K) and transforming growth factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) signaling cascades: role in the therapeutic inefficiency of tamoxifen

N.N. Babyskhina^{1,2}, I.A. Uzyanbaev², T.A. Dronova¹, N.V. Cherdynitseva¹

¹Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; 5 Kooperativny Line, Tomsk 634009, Russia;

²Siberian State Medical University; 2 Moskovsky Trakt, Tomsk 634050, Russia

Contacts: Nataliya Nikolaevna Babyskhina nbabyshkina@mail.ru

Growth factors signaling cascades and their interaction with the central regulatory targets of tumor cells and estrogens are considered as the main mechanisms of hormonal resistance in breast cancer. The integration of the transforming growth factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) and PI3K (phosphoinositide 3-kinase)/Akt (protein kinase B)/mTOR (mammalian target

of rapamycin) signaling pathway may result in the activation of proliferation and, as a result, the development of an ineffective response to therapy and disease progression. The review summarizes a systematic analysis of the literature data on the role of TGF- β 1 signaling in the mechanisms of tamoxifen resistance to in the aspect of interaction with the PI3K/Akt/mTOR. The interaction between the estrogen receptors α signaling and tamoxifen, the mechanisms of regulatory activation of TGF- β 1 and PI3K/Akt/mTOR, as well as their contribution to the tamoxifen response are considered. The direct involvement of TGF- β 1/PI3K in the mechanisms of tamoxifen resistance to determines the prospects for studying the effector of these cascades as molecular targets. The knowledge accumulated to date allows considering the TGF- β 1/PI3K signaling pathway as a potential molecular tool for the search for effective strategies for blocking the resistance of tumor cells to tamoxifen.

Keywords: transforming growth factor β 1, PI3K/Akt/mTOR, breast cancer, estrogen receptors, tamoxifen, resistance

For citation: Babyshkina N.N., Uzyanbaev I.A., Dronova T.A., Cherdyntseva N.V. Integration of phosphoinositide 3-kinase (PI3K) and transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) signaling cascades: role in the therapeutic inefficiency of tamoxifen. *Uspehi Molekularnoj Onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2023;10(4):47–60. (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2023-10-4-47-60>

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (PMЖ) является широко распространенным злокачественным новообразованием и основной причиной смерти от рака у женщин как в РФ, так и во всем мире [1, 2]. В 70 % случаев PMЖ обнаруживается экспрессия рецепторов эстрогенов α (ER α) и/или рецепторов прогестерона (PR). Такие опухоли считаются гормонположительными и имеют высокий клинический ответ на гормональную терапию. Согласно рекомендациям по лечению PMЖ St. Gallen (2021), основным препаратом для лечения гормонположительного PMЖ без амплификации рецептора эпидермального фактора роста 2 (HER2) является тамоксифен [3]. Это лекарственное средство относится к классу селективных модификаторов рецепторов эстрогенов. Механизм действия тамоксифена основан на блокировании транскрипционной активности ER α путем прямого связывания с ним [4]. Феномен неэффективного клинического ответа на данный препарат хорошо известен и связан с генетическими, эпигенетическими и фенотипическими изменениями, приводящими к росту опухоли. Среди многочисленных механизмов, опосредующих развитие гормональной резистентности, большую роль в этом процессе играют функционирование сигнальных каскадов факторов роста и их взаимодействие с центральными регуляторными мишенями опухолевых клеток и эстрогенами.

Мультифункциональная природа трансформирующего фактора роста β 1 (TGF- β 1) позволяет рассматривать этот цитокин в качестве индуктора и ингибитора опухолевого роста [5]. Его противоопухолевая активность впервые продемонстрирована в экспериментах *in vivo* [6]. В исследованиях *in vitro* показана способность клеточных линий PMЖ к продукции TGF- β 1, что приводит к развитию резистентности к эстрогенам [7]. Показано, что эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), индуцированный TGF- β 1, ассоциирован с процессами инвазии опухолевых клеток через активацию сигнального пути PI3K (фосфо-

инозитид-3-киназа)/Akt (протеинкиназа B)/mTOR (мишень рапамицина млекопитающих) [8]. Существуют экспериментальные подтверждения вклада TGF- β 1/PI3K-опосредованной активации в формирование резистентных к тамоксифену опухолевых линий рака молочной PMЖ [9].

В настоящем обзоре обобщены данные о роли TGF- β 1-сигнального пути в развитии резистентности к тамоксифену в аспекте взаимодействия с PI3K/Akt/mTOR-каскадом, представлены данные о вкладе TGF- β 1/PI3K в реализацию ответа на данный препарат.

СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ И ТАМОКСИФЕН: МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Эстроген-рецепторный комплекс играет решающую роль в развитии и прогрессировании PMЖ. Эффекты эстрогенов реализуются посредством 2 основных путей: классического (ядерного) и альтернативного (неядерного) [10]. Как стероидные гормоны эстрогены могут проникать через цитоплазматическую мембрану и взаимодействовать с внутриклеточными ER α и ER β , опосредуя прямое воздействие через связывание с последовательностями ДНК [11]. Рецепторы эстрогенов α состоят из 595 аминокислотных остатков, имеют массу 67 кДа, а рецепторы эстрогенов β (ER β) включают 530 аминокислот и имеют молекулярную массу 59 кДа [12]. В процессе передачи сигнала ER α и ER β действуют как лиганд-зависимые факторы транскрипции. В цитоплазме при связывании эстрадиола (E2) с ER α или ER β происходят их конформационные изменения с последующей димеризацией соответствующего рецептора [13]. Комплексы E2/ER α и E2/ER β направляются в ядро, где происходит их связывание с ERE-последовательностями энхансерных областей промоторов и/или 3-нетранслируемых областей генов-мишеней [14].

В ходе экспериментов было показано, что ERE-зависимая транскрипция генов опосредована не только классическими внутриклеточными рецепторами, но и мембранными рецепторами, классическими ER α

ассоциированный с латентностью (LAP), из 249 аминокислот и С-концевую последовательность из 112 аминокислот, соответствующую зрелому TGF- β 1 [27]. В результате димеризации образуется про-TGF- β 1-гомомер, происходит его расщепление в аппарате Гольджи фуринконвертазой по 278 и 279 аминокислотным остаткам, что приводит к разделению LAP и зрелого TGF- β 1-гомомера. Гомодимеры составляют небольшой латентный комплекс (SLC), к которому ковалентно присоединяется TGF-связывающий белок (LTBP) с образованием большого латентного комплекса (LLC). После секреции LLC связывается с внеклеточным матриксом и сохраняется до активации, которая определяется наличием ферментов, а также уровнем pH и индуцированной облучением продукцией активных форм кислорода [28, 29].

Существуют 2 группы рецепторов TGF- β R. Рецепторы 1-й группы распознают и связывают LAP как часть LLC или SLC. Они опосредованно участвуют в реализации конформационных изменений в димере LAP, результатом которых является высвобождение активированного TGF- β . Во 2-ю группу входят 3 типа мембранных рецепторов, связывающих активный TGF- β . Передача внутриклеточного сигнала осуществляется с помощью рецепторов 1-го и 2-го типов. Рецепторы 3-го типа представляют собой β -гликан и эндоглин [30], действующие как ингибиторы активного TGF- β и предотвращающие связывание TGF- β 1 с рецептором 2-го типа. При связывании с клеточной по-

верхностью рецептор 3-го типа облегчает связывание TGF- β с рецептором 2-го типа, передавая активный TGF- β рецептору 1-го типа [31]. Передача пролиферативного стимула посредством TGF- β 1 определяется его последовательным связыванием с TGF- β R2, рекрутированием TGF- β R1 с образованием гетеромерного комплекса серин/треонинкиназы, который трансформирует TGF- β R1 и позволяет ему фосфорилировать Smad2 и Smad3, что приводит к их активации и димеризации со Smad4. В дальнейшем комплекс переносится в ядро, что вызывает последующую активацию специфических сайтов промоторных генов [32] (рис. 2).

В нормальных эпителиальных клетках TGF- β 1 активирует транскрипцию CDKN1A и CDKN2A, которые кодируют ингибиторы циклинзависимых киназ p21 и p15, вызывая остановку клеточного цикла в фазе G1 [33]. Потеря ингибирования роста и высокий уровень экспрессии TGF- β 1 связаны со злокачественной трансформацией и прогрессированием опухоли, в том числе РМЖ. Специфические мутации компонентов передачи сигналов TGF- β 1 при РМЖ встречаются редко [34]. Более вероятным является наличие изменений в профиле активности других сигнальных сетей или относительной доступности транскрипционных корепрессоров (коактиваторов), которые связываются с каноническим Smad-путем и модулируют его [35].

Помимо канонического пути TGF- β /Smad, TGF- β 1 может напрямую активировать сигнальные пути,

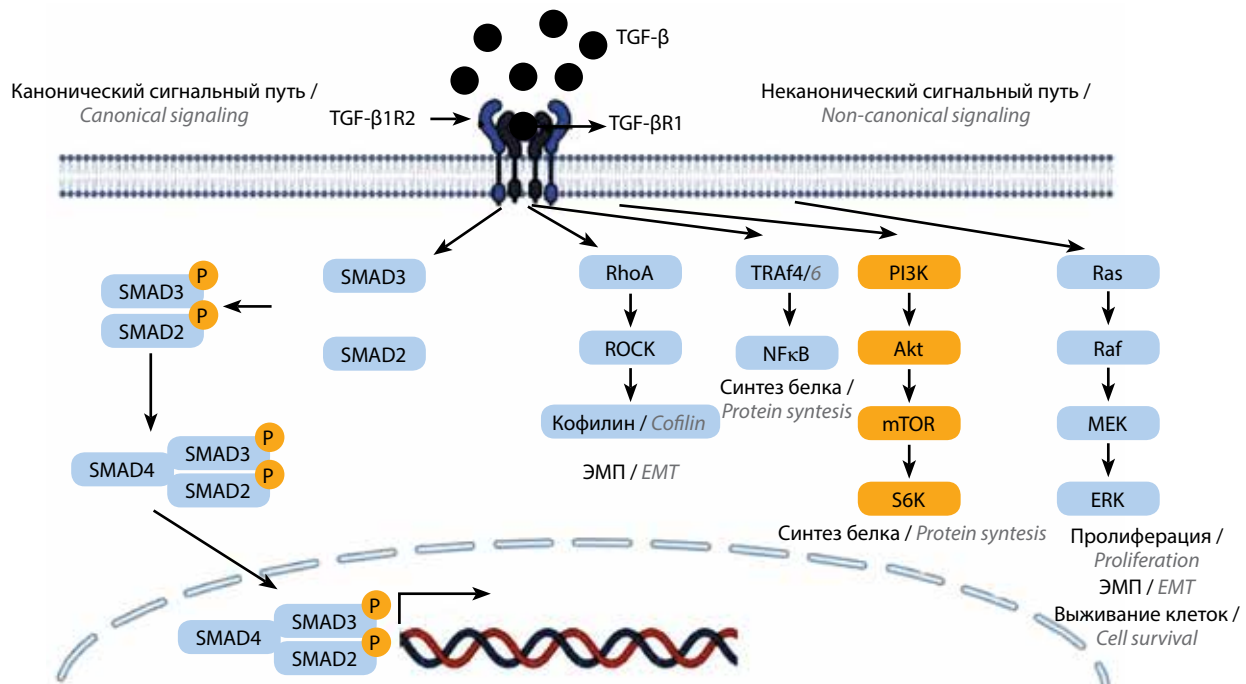


Рис. 2. Внутриклеточная сигнальная трансдукция трансформирующего фактора роста β 1 (TGF- β 1) и его интеграция с PI3K (фосфоинозитид-3-киназа)/Akt (протеинкиназа B)/mTOR (мишень рапамицина млекопитающих) (рисунок создан с использованием Bio-Render.com). TGF- β 1R2 – рецептор трансформирующего фактора роста β 2; ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход
Fig. 2. Intracellular signal transduction of transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) and its integration with PI3K (phosphoinositide-3-kinase)/Akt (protein kinase B)/mTOR (mammalian rapamycin target) (created with Bio-Render.com). TGF- β 1R2 – receptor of transforming growth factor β 2; EMT – epithelial-mesenchymal transition

отличные от Smad, включая MAPK. После образования рецепторного комплекса TGF β -R2/R1 происходит фосфорилирование ShcA по остаткам тирозина с последующей активацией Grb² и ГТФазы Ras [36, 37], определяющей фосфорилирование сопряженных белков киназы киназы MAPK, Raf, MEK и ERK. Результатом активации ERK является фосфорилирование факторов транскрипции, регулирующих процессы пролиферации и дифференцировки клеток молочной железы [38]. Кроме того, сами ГТФазы, такие как Ras, Rho, Rac и Cdc42, могут быть вовлечены в передачу TGF- β 1-сигналов, отличных от Smad [39] (см. рис. 2). Неканоническая активация RhoA ведет к фосфорилированию соответствующей киназы – Rho-киназы, которая участвует в процессах регуляции актинового цитоскелета, определяющего возможности миграции, необходимые для ЭМП, в том числе клеток РМЖ [40]. Показано, что RhoA опосредуют независимое от протеолиза амебное движение (округлое смещение с высокой скоростью миграции из-за отсутствия адгезии во внеклеточном матриксе), в то время как Rac1 и Cdc42 направляют клетки к мезенхимальному типу миграции (удлиненное смещение с низкой скоростью, связанное с адгезией и протеолитической деградацией внеклеточного матрикса) [41–43]. Кроме того, важным внутриклеточным путем, активация которого возможна посредством TGF- β 1, является TRAF6/TAK1/p38. Согласно данным исследований, рецепторы TGF- β индуцируют полиубиквитинирование K63 TRAF6, что способствует ассоциации между TRAF6 и TAK1 и последующей Smad-независимой активации JNK (с-Jun N-концевых киназ) и p38 [44].

СИГНАЛЬНАЯ ТРАНСДУКЦИЯ PI3K/АКТ/МТОР ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Комплексу PI3K/Akt/mTOR как сигнальному каскаду отведена главенствующая роль в регуляции основных клеточных процессов – метаболизма, клеточной пролиферации, апоптоза и ангиогенеза [45]. Фосфоинозитид-3-киназа является ферментом, связанным с плазматической мембраной. Ее активация опосредуется рецепторными тирозинкиназами и GPR30. Фосфоинозитид-3-киназы образуют 3 класса киназ, которые делятся на разные подклассы [46–48].

Подкласс IA-PI3K представлен гетеродимерами, состоящими из регуляторной (p85 α , p85 β , p85 γ) и каталитической (p110 α , p110 β , p110 δ , p110 γ) субъединиц. IA-PI3K присутствуют во многих типах тканей и активируются непосредственно рецепторами клеточной поверхности. Гетеродимерные белки подкласса IB-PI3K имеют регуляторную субъединицу p101, которая активирует каталитическую субъединицу p110 γ [49]. Выделяют 3 изоформы PI3Ks класса II: PI3K2 α (необходима для транслокации переносчика глюкозы GLUT4), PI3K2 β (экспрессирована в большинстве тканей и органов) и PI3K2 γ (экспрессирована только в печени, играет роль в инсулинзависимой передаче сиг-

налов, что необходимо для гомеостаза глюкозы) [50, 51]. К классу III PI3Ks причислен фермент VPS34, который вовлечен в регуляцию фагоцитоза, пиноцитоза, эндосомальной сортировки и аутофагии [52].

Активированный посредством лиганд-рецепторного взаимодействия PI3K катализирует фосфорилирование фосфолипид фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата (PIP2) по 3'-положению с образованием фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата (PIP3), после чего происходит рекрутирование протеинкиназ Akt и PDK1 (фосфоинозитид-зависимая протеинкиназа 1) на плазматическую мембрану через плекстрин-гомологичные домены. Далее Akt фосфорилируется с помощью mTORC2 по серину в положении 473 (Ser473), что изменяет конформацию Akt и делает возможным его последующее фосфорилирование PDK1 по треонину в положении 308 (Thr308). Активация Akt вызывает фосфорилирование многих нижестоящих мишеней в цитоплазме и ядре, что объясняет относительно широкий спектр его нижестоящих эффектов, включая клеточную пролиферацию, инвазию и ангиогенез [53].

Эффекты реализации PI3K/Akt/mTOR при РМЖ определяются функциональным состоянием как вышестоящих, так и нижестоящих компонентов пути. Экспериментальные исследования на клеточных линиях РМЖ, устойчивых к тамоксифену, продемонстрировали, что сверхэкспрессия HOXA5 ведет к активации PI3K/Akt/mTOR и последующему ингибированию экспрессии p53 и p21, необходимых для запуска апоптоза. Кроме того, показано, что HOXA5/Akt/p53 индуцирует развитие ЭМП [54]. Выявлена гиперэкспрессия MMPs, а также генов путей PI3K, MAPK и NF- κ B (транскрипционного ядерного фактора каппа В) в клеточных линиях MCF-7 при добавлении 50 мкМ тамоксифена, которая была ассоциирована с выраженными морфологическими изменениями, высокой скоростью роста и миграцией клеток, а также высоким адгезионным потенциалом. При этом повышение экспрессии генов *AKT1* и *MAPK1* фиксировали в клетках, обработанных 10 мкМ тамоксифена.

Валидация экспериментальных данных на клинических образцах показала ассоциацию высокого уровня экспрессии *MAPK1*, *AKT1*, *TIMP2*, *MMP1* и *MMP9* с неблагоприятным прогнозом и низкой выживаемостью пациентов с РМЖ, получавших тамоксифен [55]. Выявлено, что потеря гетерозиготности гена опухолевого супрессора *P TEN*, связанная со снижением или полной потерей экспрессии белка PTEN, приводит к аномальной активации пути PI3K/Akt с последующим приобретением резистентности к тамоксифену и рецидивам заболевания [56]. Также получены данные о корреляции молекулярных нарушений PI3K/Akt/mTOR с метаболическими нарушениями в опухолевых клетках линии MCF-7, обработанных тамоксифеном. Исследования показали повышение транскрипционной активности генов каскада PI3K/Akt, сопровождающееся подавлением активности *P TEN*

и *GSK-3 β* , что связано с изменением скорости метаболизма глюкозы в клетках. Авторы отметили значительное увеличение скорости потребления глюкозы из культуральной среды в тамоксифен-резистентных клетках, ассоциированное с высоким уровнем экспрессии гена *GLUL* и незначительным изменением экспрессии гена *c-MYC*. Таким образом, молекулярные и метаболические изменения, предшествующие приобретенной резистентности к тамоксифену, могут быть использованы в качестве биомаркеров или мишеней чувствительности к нему [57].

ТРАНСФОРМИРУЮЩИЙ ФАКТОР РОСТА β 1 И ФОСФОИНОЗИТИД-3-КИНАЗА: ВЗАИМНАЯ РЕГУЛЯТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ

В настоящее время накоплены данные о взаимосвязи сигнального пути TGF- β 1 с каскадом PI3K/Akt/mTOR при РМЖ. Проведение внутриклеточного сигнала посредством 2 рассматриваемых путей сложно; их взаимная регуляция зависит от состояния клетки и связанных с ним патофизиологических процессов [58].

Доказана способность TGF- β 1 быстро активировать PI3K, что подтверждается наличием фосфорилированного эффектора Akt, определяющего пролиферативную активность и эпителиально-мезенхимальную трансформацию опухолевых клеток молочной железы. Такие эффекты индукции PI3K выявлены как посредством участия TGF- β /TGF- β R, так и путем активации тромбоцитарного фактора роста (PDGF) [59, 60]. В экспериментах с введением экзогенного TGF- β обнаружено, что последний повышает активность PI3K за счет способности p85-ассоциированных иммунных комплексов фосфорилировать инозитиды *in vitro*. Результаты исследования свидетельствуют о потенциальной ассоциации как TGF β -R1, так и TGF β -R2 с регуляторной субъединицей p85 PI3K [61]. Для отдельных клеток (в частности, эндотелиальных) показана возможность TGF- β 1-индуцированного ангиогенеза посредством аутокринной секреции TGF- α , фактора роста выживания клеток, активирующего PI3K/Akt и p42/p44 MAPK [62].

Однако существуют данные, указывающие на способность TGF- β 1 подавлять сигнальную активность PI3K/Akt. Продемонстрировано, что активин/TGF- β -индуцированная экспрессия инозитолфосфатазы SHIP приводит к внутриклеточным изменениям в пуле фосфолипидов, а также к ингибированию фосфорилирования Akt и запуску апоптоза [63]. В свою очередь, Akt способен предотвращать фосфорилирование и ядерную транслокацию Smad3, что приводит к ингибированию TGF- β 1-индуцированного апоптоза [64]. Представленные данные свидетельствуют о тесной регуляторной коммуникации TGF- β 1 и PI3K/Akt при развитии опухолевого процесса во множестве точек взаимодействия.

ТРАНСФОРМИРУЮЩИЙ ФАКТОР РОСТА β 1 / ФОСФОИНОЗИТИД-3-КИНАЗА: ВКЛАД В РЕАЛИЗАЦИЮ ОТВЕТА НА ТАМОКСИФЕН

Результатом интеграции TGF- β 1 и PI3K/Akt/mTOR может являться модуляция многочисленных эффектов, опосредованных данными сигнальными каскадами, в том числе активация пролиферативных процессов в клетках молочной железы (рис. 2). Обобщенные данные о непосредственном участии TGF- β 1/PI3K в механизмах резистентности к антиэстрогенам, полученные в ходе исследований *in vitro* и *in vivo*, представлены в табл. 1.

Теоретическим основанием наличия тесной связи между TGF- β 1 и Akt в тамоксифен-резистентных клетках стали экспериментальные данные о прямом регуляторном влиянии тамоксифена на индукцию TGF- β 1 [65], а также об ингибировании антипролиферативных ответов TGF- β 1 в присутствии Akt [61]. Для подтверждения данной гипотезы Y.A. Yoo и соавт. исследовали возможность прямой стимуляции пролиферации тамоксифен-резистентных линий опухолевых клеток молочной железы посредством TGF- β 1. Авторы показали, что обработанные 4-ОНТ клетки, резистентные к тамоксифену, теряют способность к продукции TGF- β 1 и фосфорилированию Smad3, а также избегают TGF- β 1-опосредованного ингибирования роста [9]. Кроме того, ингибирование активности PI3K/Akt в тамоксифен-резистентных клетках путем трансфекции *Myc-Akt^{K179M}*, а также их обработка LY294002 (ингибитором PI3K) приводят к супрессии TGF- β 1. Принудительная активация Akt путем трансфекции клеток MCF-7 вектором *Myc-Akt^{Myr}* подавляет ответ TGF- β 1 посредством 4-ОНТ. Таким образом, были получены прямые доказательства супрессии TGF- β 1 пролиферативных стимулов посредством активации Akt, что может быть связано с развитием устойчивости к тамоксифену в клетках РМЖ [9].

Подобная гиперактивация Akt может быть следствием наличия мутаций в гене *P TEN*, приводящих к отсутствию продукции белка [66]. В некоторых исследованиях представлены и другие возможные механизмы активации Akt. Так, EGF и TGF- α демонстрируют способность к активации Akt в тамоксифен-резистентных линиях клеток молочной железы по сравнению с линией MCF-7, что предполагает наличие аутокринной или паракринной активации Akt через гетеродимерный комплекс EGFR/HER2 [67].

Наш опыт исследования Akt как ключевой мишени, связывающей многочисленные сигнальные пути при РМЖ, показал высокий уровень экспрессии фосфорилированной формы белка Akt (pS473) у больных с отсутствием ответа на тамоксифен [68]. С учетом представленных выше данных о непосредственном вовлечении TGF- β 1/PI3K в механизмы устойчивости к тамоксифену можно предположить маркерную значимость белков-эффекторов этих каскадов. Мы инициировали такое исследование и получили предварительные результаты,

Таблица 1. Обобщенные данные о непосредственном участии сигнальных каскадов трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) и фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) в механизмах резистентности к антиэстрогенам, полученные в ходе исследований *in vitro* и *in vivo*

Table 1. Summarized data on direct involvement of transforming growth factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) and phosphoinositide 3-kinase (PI3K) signaling cascades in mechanisms of resistance against antiestrogens obtained in *in vitro* and *in vivo* experiments

Объект исследования/мишень Test subject/target	Результаты исследования/механизм действия Study results/mechanism of action	Источник Source
TGF- $\beta 1$	Тамоксифен индуцирует экспрессию TGF- $\beta 1$ в линии клеток MCF-7 Tamoxifen induces TGF- $\beta 1$ expression in MCF-7 cell line	[65]
PI3K	TGF- $\beta 1R1$ и TGF- $\beta 2R2$ опосредованно взаимодействуют с p85 PI3K. Оба типа рецепторов необходимы для лиганд-индуцированной активации PI3K. Активация TGF β -R1 индуцирует активность PI3K в эпителиальных клетках TGF- $\beta 1R1$ and TGF- $\beta 2R2$ indirectly interact with p85 PI3K. Both receptor types are necessary for ligand-induced PI3K activation. TGF β -R1 activation induces PI3K activity in epithelial cells	[61]
Akt	Ингибирование активности PI3K/Akt в резистентных к тамоксифену клеточных линиях приводит к супрессии TGF- $\beta 1$. Эпидермальный фактор роста (EGF) и TGF- α активируют Akt в резистентных к тамоксифену линиях клеток молочной железы посредством аутокринной или паракринной регуляции. Высокий уровень экспрессии Akt (pS473) связан с неэффективным ответом на тамоксифен у больных раком молочной железы. Наблюдается подавление роста тамоксифен- и фулвестрант-резистентных клеточных линий при добавлении в среду ингибиторов PI3K или Akt. Обработка летрозол- или фулвестрант-резистентных клеток ингибитором mTOR восстанавливает антиэстрогенную активность Inhibition of PI3K/Akt activity in tamoxifen-resistant cell lines leads to TGF- $\beta 1$ suppression. Epidermal growth factor (EGF) and TGF- α activate Akt in tamoxifen-resistant breast cancer cell lines through autocrine or paracrine regulation. High Akt (pS473) expression level is associated with ineffective response to tamoxifen in patients with breast cancer. Addition of PI3K or Akt inhibitors to culture medium leads to suppression of growth of tamoxifen- and fulvestrant-resistant cell lines. Treatment of letrozole- or fulvestrant-resistant cell lines with mTOR inhibitor restores antiestrogen activity	[9] [67] [68] [69] [70]
pAkt ⁺ / TGF- $\beta 2R2$ ⁻	Субпопуляция клеток pAkt ⁺ /TGF- $\beta 2R2$ ⁻ преобладает у пациентов тамоксифен-резистентной группы pAkt ⁺ /TGF- $\beta 2R2$ ⁻ cell subpopulation is prevalent in patients of tamoxifen-resistant group	[71]

Примечание. TGF- $\beta 1R1$ – рецептор 1 TGF- β ; TGF- $\beta 2R2$ – рецептор 2 TGF- β ; mTOR – мишень рапамицина млекопитающих; Akt – протеинкиназа B.

Note. TGF- $\beta 1R1$ – TGF- β receptor 1; TGF- $\beta 2R2$ – TGF- β receptor 2; mTOR – mammalian rapamycin target; Akt – protein kinase B.

свидетельствующие о потенциальном вкладе pAkt⁺/TGF- $\beta 2R2$ -популяции опухолевых клеток в формирование резистентного к тамоксифену фенотипа [71].

Интересно, что формирование резистентности к фулвестранту – конкурентному антагонисту эстрогеновых рецепторов – в большей степени связано с изменением активности PI3K/Akt/mTOR. Экспериментальные исследования продемонстрировали подавление роста антиэстроген-резистентных клеточных линий (резистентных как к тамоксифену, так и к фулвестранту) при добавлении в среду ингибиторов PI3K или Akt [69]. Кроме того, на модели *in vitro* показана возможность преодоления резистентности к летрозолу или фулвестранту при одновременном ингибировании сразу двух мишеней: ER α и mTOR [70]. Сравнительный детальный анализ профиля экспрессии генов и метилирования ДНК тамоксифен- и фулвестрант-резистентных клеточных линий выявил их специфические молекулярные особенности. Так, устойчивость к тамоксифену была ассоциирована с активацией ER α -опосредованных регуляторных механизмов, тогда как резистентность к фулвестранту связана с аутокринно-регулируемой пролиферацией посредством

активации сигнальных путей независимо от ER α . Авторы полагают, что в механизмы резистентности к данным препаратам вовлечены принципиально разные сигнальные каскады [72].

ИНГИБИТОРЫ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА $\beta 1$ И ФОСФОИНОЗИТИД-3-КИНАЗЫ КАК СПОСОБ ПРЕОДОЛЕНИЯ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

Накопленные экспериментальные данные позволили рассматривать TGF- $\beta 1$ в качестве перспективной терапевтической мишени при многих злокачественных новообразованиях. В настоящее время разработаны различные стратегии блокирования пролиферативных стимулов TGF- $\beta 1$, в том числе с использованием моноклональных антител, направленных на лиганд и рецепторы TGF- $\beta 1$, а также бифункциональные молекулы TGF- $\beta 1$ /PD-L1 (лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1), антисмысловые олигонуклеотиды, TGF- $\beta 1$ -ассоциированные вакцины и ингибиторы рецепторных киназ (табл. 2). Однако плейотропное действие TGF- $\beta 1$ в механизмах

клеточного и тканевого гомеостаза остается основным существенным ограничением быстрой клинической разработки анти-TGF- β 1-агентов.

Иницированы клинические исследования фазы I (NCT03524170), направленные на оценку побочных эффектов и определение оптимальной дозы бинтрафуса альфа (M7824) – бифункционального препарата, включающего моноклональные антитела против PD-L1, интегрированные с внеклеточным доменом двух молекул TGF- β 2, – при его назначении в комбинации с лучевой терапией у пациентов с распространенным гормонположительным РМЖ без амплификации HER2 [73].

Продолжаются клинические исследования фазы II (NCT01401062) по изучению безопасности и эффективности фрезолиумаба (GC1008, панспецифическое рекомбинантное моноклональное антитело против трех изоформ TGF- β) в сочетании с лучевой терапией у пациентов с метастатическим РМЖ. Показано, что больные, получавшие более высокую дозу этого препарата, имели благоприятный системный иммунный ответ и более длительную медиану общей выживаемости, чем больные, которым назначена более низкая его доза [74].

Фармакокинетические характеристики вактосертиба – ингибитора TGF- β 1 – были оценены в рамках многоцентрового клинического исследования I фазы у пациентов с распространенным РМЖ. Данные, полученные в ходе этого эксперимента, будут чрезвычайно востребованы для последующей клинической разработки препарата [75].

В отличие от TGF- β 1 фундаментальная значимость сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в процессах пролиферации, метаболизма опухолевых клеток и формирования гормональной резистентности фактически предопределила развитие стратегий, направленных на фармакологическое блокирование основных его компонентов.

Ингибиторы PI3K 1-го поколения, также известные как пан-PI3K-ингибиторы, нацелены на все 4 каталитические изоформы PI3K класса I. Клинические исследования BELLE-2 (NCT01610284) и BELLE-3 (NCT01633060) перорального пан-PI3K-ингибитора бупарлисиба (BKM120) в комбинации с фулвестрантом продемонстрировали его эффективность у больных распространенным гормонположительным РМЖ без амплификации HER2. Однако выраженная токсичность комбинации препаратов привела к прекращению исследований [76, 77]. Изучение эффективности подобного пан-PI3K-ингибитора пиктилисиба (GDC-094) в сочетании с фулвестрантом у пациенток в постменопаузе с метастатическим гормонположительным РМЖ, резистентным к ингибиторам ароматазы, не продемонстрировало выраженного преимущества по показателям выживаемости без прогрессирования. Высокая токсичность этого препарата была сопоставима с токсичностью бупарлисиба [78].

Селективные ингибиторы изоформ PI3K должны были повысить эффективность и одновременно снизить токсичность таргетных препаратов. Применение таселисиба (GDC-0032) – α -специфичного ингибитора PI3K – продемонстрировало выраженный эффект подавления опухоли на моделях ксенотрансплантатов. В комбинации с фулвестрантом этот препарат показал лучшие результаты, чем при его использовании в качестве монотерапии, у пациенток в постменопаузе с метастатическим РМЖ с мутацией в *PIK3CA* и прогрессированием во время/после гормональной терапии [79]. Однако дальнейшие исследования таселисиба были остановлены из-за высокой частоты нежелательных явлений.

Апелелисиб (pique™; BYL719) стал первым высокоселективным ингибитором α -изоформы PI3K. Он был одобрен Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA) США в мае 2019 г. и рекомендован к применению в сочетании с фулвестрантом для лечения пациенток в постменопаузе с гормонположительным HER2-отрицательным распространенным или метастатическим РМЖ с мутацией в гене *PIK3CA*, резистентным к гормональной терапии [80]. Исследование SOLAR-1 (NCT02437318) показало, что у больных, получавших апелелисиб в комбинации с фулвестрантом, выживаемость без прогрессирования была значительно выше, чем у больных, принимавших плацебо и фулвестрант (11 мес против 5,7 мес) [81]. Применение апелелисиба или бупарлисиба с тамоксифеном и гозерелином в качестве терапии 1-й линии продемонстрировало обнадеживающие результаты у пациенток азиатской популяции с РМЖ в пременопаузе [82].

На основании доклинических исследований, которые доказали синергизм ингибиторов CDK4/6 и ингибиторов PI3K, проводятся клинические исследования инаволисиба (GDC-0077) – ингибитора p110a – в качестве монотерапии или в комбинации с летрозолом/фулвестрантом и палбоциклибом для лечения местно-распространенного или метастатического *PIK3CA*-мутантного РМЖ [83].

Потенциальный эффект ингибиторов Akt изучен в исследованиях, проведенных в основном с участием больных метастатическим гормонположительным HER2-отрицательным РМЖ. Пан-Akt-ингибитор капивасертиб в сочетании с фулвестрантом (исследование ФАКТИОН) продемонстрировал высокие показатели выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости при распространенном РМЖ, резистентном к ингибиторам ароматазы [84]. Клинический опыт применения ингибиторов Akt на ранних стадиях гормонположительного РМЖ остается довольно редким. В клиническом исследовании II фазы неoadъювантная терапия аллостерическим Akt-ингибитором МК-2206 в сочетании с анастрозолом не обеспечила полного патоморфологического ответа у пациенток с РМЖ ранних стадий с мутацией в *PIK3CA*, что привело к прекращению изучения препаратов [85].

Таблица 2. Клинические исследования ингибиторов сигнальных путей трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) и фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) при гормонположительном раке молочной железы

Table 2. Clinical trials of transforming growth factor β -1 (TGF- β 1) and phosphoinositide 3-kinase (PI3K) signaling inhibitors in hormone-positive breast cancer

Препарат Drug	Мишень Target	Механизм действия Mechanism of action	Дизайн Design	Исследование Trial	Результаты, источник Results, source
Бинтрафусп альфа (M7824) Bintrafusp alpha (M7824)	TGF- $\beta 1$, TGF- $\beta 2$, TGF- $\beta 3$	Моноклональное антитело против PD-L1, связанное с внеклеточным доменом TGF- β R2, блокирует 3 изоформы TGF- β Monoclonal antibody against PD-L1 linked to TGF- β R2 extracellular domain, blocks 3 forms of TGF- β	Лучевая терапия + бинтрафусп альфа Radiotherapy + bintrafusp alpha	NCT03524170, фаза I NCT03524170, phase I	Не закончено [73] Not completed [73]
Фрезолиму- маб (GC1008) Fresolimumab (GC1008)	TGF- $\beta 1$, TGF- $\beta 2$, TGF- $\beta 3$	Панспецифическое рекомбинантное моноклональное антитело, блокирует 3 изоформы TGF- β Panspecific recombinant monoclonal antibody, blocks 3 isoforms of TGF- β	Лучевая терапия + фрезолимумаб Radiotherapy + fresolimumab	NCT01401062, фаза II NCT01401062, phase II	Благоприятный системный иммунный ответ, длительная медиана общей выживаемости в группе пациентов, получавших высокую дозу фрезолимумаба, по сравнению с группой, получавшей более низкую дозу этого препарата [74] Favorable systemic immune response, long median overall survival in the group of patients receiving high fresolimumab dose compared to the group of patients receiving lower dose of the drug [74]
Вактосертиб Vactosertib	TGF- β R1	Блокирует TGF- β R1 Blocks TGF- β R1	Вактосертиб + монотерапия Vactosertib + monotherapy	Фаза I Phase I	Проведен анализ фармакокинетики препарата [75] Analysis of drug pharmacokinetics was performed [75]
Бупарлисиб (VKM120) Buparlisib (VKM120)	PI3K α , PI3K β , PI3K γ , PI3K δ	Блокирует 4 изоформы PI3K Blocks 4 isoforms of PI3K	Бупарлисиб + фулвестрант, плацебо + фулвестрант Buparlisib + fulvestrant, placebo + fulvestrant	NCT01610284 (BELLE-2), NCT01633060 (BELLE-3)	Увеличение выживаемости без прогрессирования в группе пациентов, получавших буларлисиб + фулвестрант; выраженная токсичность комбинации препаратов [76, 77] Increased progression-free survival in the group of patients receiving buparlisib plus fulvestrant; marked toxicity of the drug combination [76, 77]
Пиктилисиб (GDC-094) Pictilisib (GDC-094)	PI3K α , PI3K β , PI3K γ , PI3K δ	Блокирует 4 изоформы PI3K Blocks 4 isoforms of PI3K	Пиктилисиб + фулвестрант, плацебо + фулвестрант Pictilisib + fulvestrant, placebo + fulvestrant	FERGI, фаза II FERGI, phase II	Не получено значимых различий по показателям выживаемости без прогрессирования в группе пациентов, получавших пиктилисиб + фулвестрант; выраженная токсичность [78] No significant differences in progression-free survival in the group of patients receiving pictilisib + fulvestrant; marked toxicity [78]
Таселисиб (GDC-0032) Taselisib (GDC-0032)	PI3K α	Блокирует α -каталитическую изоформу PI3K Blocks α -catalytic isoform of PI3K	Таселисиб + фулвестрант, плацебо + фулвестрант Taselisib + fulvestrant, placebo + fulvestrant	NCT02340221 (SANDPIPER), фаза III NCT02340221 (SANDPIPER), phase III	Увеличение показателей выживаемости без прогрессирования в группе пациентов, получавших таселисиб + фулвестрант [79] Increased progression-free survival in the group of patients receiving taselisib + fulvestrant [79]

Окончание табл. 2
The end of table 2

Препарат Drug	Мишень Target	Механизм действия Mechanism of action	Дизайн Design	Исследование Trial	Результаты, источник Results, source
Апеллисиб (BYL719) Apelisib (BYL719)	PI3K α	Блокирует α -каталитическую изоформу PI3K Blocks α -catalytic isoform of PI3K	Апеллисиб + фулвестрант, плаце- бо + фулвестрант Apelisib + fulvestrant, placebo + fulvestrant	NCT02437318 (SOLAR-1), фаза III NCT02437318 (SOLAR-1), phase III	Увеличение показателей выживаемости без прогрессиро- вания в группе пациентов, получавших апеллисиб + фулвестрант [81] Increased progression-free survival in the group of patients receiving apelisib + fulvestrant [81]
Апеллисиб (BYL719). Apelisib (BYL719). Бупарлисиб (BKM120) Buparlisib (BKM120)	PI3K α , PI3K α , PI3K β , PI3K γ , PI3K δ	Блокирует α -каталитическую изоформу PI3K. Blocks α -catalytic isoform of PI3K. Блокирует 4 изоформы PI3K Blocks 4 isoforms of PI3K	Апеллисиб, тамоксифен + гозерелин. Apelisib, tamoxifen + goserelin. Бупарлисиб, тамок- сифен + гозерелин Buparlisib, tamoxifen + goserelin	NCT02058381, фаза Ib NCT02058381, phase Ib	Рекомендованная доза апеллисиба и бупарлисиба составила 350 и 100 мг соответственно [82] Recommended doses of apelisib and buparlisib amounted to 350 and 100 mg, respectively [82]
Инаволисиб (GDC-0077) Inavolisib (GDC-0077)	PI3K α	Блокирует α -каталитическую изоформу PI3K Blocks α -catalytic isoform of PI3K	Инаволисиб + монотерапия, инаволисиб + антиэстрогены Inavolisib + monotherapy, inavolisib + antiestrogens	NCT03006172, фаза I NCT03006172, phase I	Не закончено [83] Not completed [83]
Капивасер- тиб (AZD5363) Capivasertib (AZD5363)	Akt1, Akt2, Akt3	Блокирует 3 изоформы Akt Blocks 3 isoforms of Akt	Капивасертиб + фулвестрант, плаце- бо + фулвестрант Capivasertib + fulvestrant, placebo + fulvestrant	NCT01992952 (ФАКТИОН), фаза II NCT01992952 (FAKTION), phase II	Увеличение показателей выживаемости без прогрессиро- вания в группе пациентов, получавших капивасертиб + фулвестрант [84] Increased progression-free survival in the group of patients receiving capivasertib + fulvestrant [84]
МК-2206	Akt1, Akt2, Akt3	Блокирует 3 изоформы Akt Blocks 3 isoforms of Akt	МК-2206 + анаэстрозол MK-2206 + anastrozole	Фаза II Phase II	Отсутствие полного патоморфологического ответа [85] Absence of complete pathomorphological response [85]

Примечание. TGF- β 1 – трансформирующий фактор роста β 1; TGF- β 2 – трансформирующий фактор роста β 2; TGF- β 3 – трансформирующий фактор роста β 3; TGF- β R1 – рецептор 1 трансформирующего фактора роста β ; TGF- β R2 – рецептор 2 трансформирующего фактора роста β ; PI3K β – фосфоинозитид-3-киназа β ; PI3K γ – фосфоинозитид-3-киназа γ ; PI3K δ – фосфоинозитид-3-киназа δ ; PD-L1 – лиганд рецептора проаграммируемой клеточной гибели 1.

Note. TGF- β 1 – transforming growth factor β 1; TGF- β 2 – transforming growth factor β 2; TGF- β 3 – transforming growth factor β 3; TGF- β R1 – receptor 1 transforming growth factor β ; TGF- β R2 – receptor 2 transforming growth factor β ; PI3K β – phosphoinositide-3-kinase β ; PI3K γ – phosphoinositide-3-kinase γ ; PI3K δ – phosphoinositide-3-kinase δ ; PD-L1 – programmed cell death 1 ligand 1.

Таким образом, целенаправленное воздействие на ключевые эффекторы TGF- β 1/PI3K представляет перспективную стратегию преодоления устойчивости к гормональной терапии, в том числе к тамоксифену. Однако выбор ключевой, основной мишени весьма затруднителен, поскольку, с одной стороны, применение пан-ингибиторов (PI3K, Akt) сопряжено с высоким профилем их токсичности, а с другой, использование отдельных ключевых эффекторов TGF- β 1/PI3K может способствовать запуску альтернативных сигнальных путей, обеспечивающих рост опухоли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доказанная эффективность и низкая частота побочных эффектов тамоксифена обуславливают его

успешное применение у пациенток с гормонположительным РМЖ. Формирование непосредственной или приобретенной резистентности к тамоксифену диктует необходимость изучения механизмов нереализованного клинического ответа. Экспериментальные исследования подтверждают активацию TGF- β 1/PI3K-опосредованной трансдукции, обеспечивающую способность опухолевых клеток молочной железы к лекарственной устойчивости. Накопленные к настоящему времени знания позволяют рассматривать сигнальный путь TGF- β 1/PI3K как потенциальный молекулярный инструмент для поиска эффективных стратегий блокирования резистентности опухолевых клеток к тамоксифену.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадной. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2022. 252 с. Malignant neoplasms in Russia in 2021 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, A.O. Shakhzadova. Moscow: FSBI "MNIIOI named after P.A. Herzen" of the Ministry of Health of Russia, 2022. 252 p. (In Russ.).
2. Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I. et al. Cancer statistics for the year 2020. *Int J Cancer* 2021;10:778–89. DOI: 10.1002/ijc.33588
3. Burstein H.J., Curigliano G., Thürlimann B. et al. Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021. *Ann Oncol* 2021;32(10):1216–35. DOI: 10.1016/j.annonc.2021.06.023
4. Jordan V.C. The role of tamoxifen in the treatment and prevention of breast cancer. *Curr Probl Cancer* 1992;16(3):129–76. DOI: 10.1016/0147-0272(92)90002-6
5. Zarzynska J.M. Two faces of TGF- β 1 in breast cancer. *Mediators Inflamm* 2014;2014:141747. DOI: 10.1155/2014/141747
6. Silberstein G.B., Daniel C.W. Reversible inhibition of mammary gland growth by transforming growth factor- β . *Science* 1987;237(4812):291–3. DOI: 10.1126/science.3474783
7. Knabbe C., Lippman M.E., Wakefield L.M., et al. Evidence that transforming growth factor- β is a hormonally regulated negative growth factor in human breast cancer cells. *Cell* 1987;48(3):417–28. DOI: 10.1016/0092-8674(87)90193-0
8. Lamouille S., Derynck R. Cell size and invasion in TGF- β -induced epithelial to mesenchymal transition is regulated by activation of the mTOR pathway. *J Cell Biol* 2007;178(3):437–51. DOI: 10.1083/jcb.200611146
9. Yoo Y.A., Kim Y.H., Kim J.S. et al. The functional implications of Akt activity and TGF- β signaling in tamoxifen-resistant breast cancer. *Biochim Biophys Acta* 2008;1783(3):438–47. DOI: 10.1016/j.bbamer.2007.12.001
10. Nardone A., De Angelis C., Trivedi M.V., et al. The changing role of ER in endocrine resistance. *Breast* 2015;24(2):60–6. DOI: 10.1016/j.breast.2015.07.015
11. Fuentes N., Silveyra P. Estrogen receptor signaling mechanisms. *Adv Protein Chem Struct Biol* 2019;116:135–70. DOI: 10.1016/bs.apcsb.2019.01.00
12. Dahlman-Wright K., Cavaillès V., Fuqua S.A. et al. International union of pharmacology. LXIV. Estrogen receptors. *Pharmacol Rev* 2006;58(4):773–81. DOI: 10.1124/pr.58.4.8
13. O'Lone R., Frith M.C., Karlsson E.K. et al. Genomic targets of nuclear estrogen receptors. *Mol Endocrinol* 2004;18(8):1859–75. DOI: 10.1210/me.2003-0044
14. Klinge C.M. Estrogen receptor interaction with estrogen response elements. *Nucleic Acids Res* 2000;29(14):2905–19. DOI: 10.1093/nar/29.14.2905
15. Filardo E.J., Quinn J.A., Bland K.I. et al. Estrogen-induced activation of Erk-1 and Erk-2 requires the G protein-coupled receptor homolog, GPR30, and occurs via trans-activation of the epidermal growth factor receptor through release of HB-EGF. *Mol Endocrinol* 2000;14(10):1649–60. DOI: 10.1210/mend.14.10.0532
16. Filardo E.J., Quinn J.A., Frackelton A.R. et al. Estrogen action via the G protein-coupled receptor, GPR30: stimulation of adenylyl cyclase and cAMP-mediated attenuation of the epidermal growth factor receptor-to-MAPK signaling axis. *Mol Endocrinol* 2002;16(1):70–84. DOI: 10.1210/mend.16.1.0758
17. Koszegi Z., Cheong R.Y. Targeting the non-classical estrogen pathway in neurodegenerative diseases and brain injury disorders. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2022;13:999236. DOI: 10.3389/fendo.2022.999236
18. Prossnitz E.R., Barton M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. *Nat Rev Endocrinol* 2011;7(12):715–26. DOI: 10.1038/nrendo.2011.122
19. Ali S., Rasool M., Chaoudhry H. et al. Molecular mechanisms and mode of tamoxifen resistance in breast cancer. *Bioinformatics* 2016;12(3):135–9. DOI: 10.6026/97320630012135
20. Hörlein A.J., Näär A.M., Heinzel T. et al. Ligand-independent repression by the thyroid hormone receptor mediated by a nuclear receptor co-repressor. *Nature* 1995;377(6548):397–404. DOI: 10.1038/377397a0
21. Heldring N., Pawson T., McDonnell D. et al. Structural insights into corepressor recognition by antagonist-bound estrogen receptors. *J Biol Chem* 2007;282(14):10449–55. DOI: 10.1074/jbc.M611424200
22. De Amicis F., Zupo S., Panno M.L. et al. Progesterone receptor B recruits a repressor complex to a half-PRE site of the estrogen receptor alpha gene promoter. *Mol Endocrinol* 2009;23(4):454–65. DOI: 10.1210/me.2008-0267

23. Bartella V., Rizza P., Barone I. et al. Estrogen receptor beta binds Sp1 and recruits a corepressor complex to the estrogen receptor alpha gene promoter. *Breast Cancer Res Treat* 2012;134(2):569–81. DOI: 10.1007/s10549-012-2090-9
24. Hurtado A., Holmes K.A., Geistlinger T.R. et al. Regulation of ERBB2 by oestrogen receptor-PAX2 determines response to tamoxifen. *Nature* 2008;456(7222):663–6. DOI: 10.1038/nature07483
25. Syed V. TGF- β signaling in cancer. *J Cell Biochem* 2016;117(6):1279–87. DOI: 10.1038/nature07483
26. Massagué J. The transforming growth factor-beta family. *Annu Rev Cell Biol* 1990;6:597–641. DOI: 10.1146/annurev.cb.06.110190.003121
27. Gentry L.E., Lioubin M.N., Purchio A.F. et al. Molecular events in the processing of recombinant type 1 pre-pro-transforming growth factor beta to the mature polypeptide. *Mol Cell Biol* 1988;8(10):4162–8. DOI: 10.1128/mcb.8.10.4162 – 4168
28. Piek E., Heldin C.H., Ten Dijke P. Specificity, diversity, and regulation in TGF-beta superfamily signaling. *FASEB J* 1999;13(15):2105–24.
29. Papageorgis P. TGF β signaling in tumor initiation, epithelial-to-mesenchymal transition, and metastasis. *J Oncol* 2015;2015:587193. DOI: 10.1155/2015/587193
30. Lin H.Y., Wang X.F. Expression cloning of TGF-beta receptors. *Mol Reprod Dev* 1992;32(2):105–10. DOI: 10.1002/mrd.1080320205.
31. Massagué J. A very private TGF-beta receptor embrace. *Mol Cell* 2008;29(2):149–50. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.01.006
32. Tzavlaki K., Moustakas A. TGF- β signaling. *Biomolecules* 2020;10(3):487. DOI: 10.3390/biom10030487
33. Denicourt C., Dowdy S.F. Another twist in the transforming growth factor beta-induced cell-cycle arrest chronicle. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(26):15290–301. DOI: 10.1073/pnas.0307282100
34. Babyschkina N., Malinovskaya E., Stakheyeva M. et al. Association of functional -509c>t polymorphism in the TGF- β 1 gene with infiltrating ductal breast carcinoma risk in a Russian western Siberian population. *Cancer Epidemiol* 2011;35(6):560–63. DOI: 10.1016/j.canep.2011.02.002
35. Barcellos-Hoff M.H., Akhurst R.J. Transforming growth factor-beta in breast cancer: too much, too late. *Breast Cancer Res* 2009;11(1):202–7. DOI: 10.1186/bcr2224
36. Lee M.K., Pardoux C., Hall M.C. et al. TGF-beta activates Erk MAP kinase signalling through direct phosphorylation of ShcA. *EMBO J* 2007;26(17):3957–67. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601818
37. McKay M.M., Morrison D.K. Integrating signals from RTKs to ERK/MAPK. *Oncogene* 2007;26(22):3113–22. DOI: 10.1038/sj.onc.1210394
38. van der Geer P., Hunter T., Lindberg R.A. Receptor protein-tyrosine kinases and their signal transduction pathways. *Annu Rev Cell Biol* 1994;10:251–337. DOI: 10.1146/annurev.cb.10.110194.001343
39. Zhang Y.E. Non-Smad pathways in TGF-beta signaling. *Cell Res* 2009;19(1):128–39. DOI: 10.1038/cr.2008.328
40. Kim S., Kim S.A., Han J., et al. Rho-Kinase as a target for cancer therapy and its immunotherapeutic potential. *Int J Mol Sci* 2021;22(23):12916–36. DOI: 10.3390/ijms222312916
41. Sahai E., Marshall C.J. RHO-GTPases and cancer. *Nat Rev Cancer* 2002;2(2):133–42. DOI: 10.1038/nrc725
42. Panková K., Rösel D., Novotný M. et al. The molecular mechanisms of transition between mesenchymal and amoeboid invasiveness in tumor cells. *Cell Mol Life Sci* 2010;67(1):63–71. DOI: 10.1007/s00018-009-0132-1
43. Taddei M.L., Giannoni E., Morandi A. et al. Mesenchymal to amoeboid transition is associated with stem-like features of melanoma cells. *Cell Commun Signal* 2014;12:24–35. DOI: 10.1186/1478-811X-12-24
44. Yamashita M., Fatyol K., Jin C. et al. TRAF6 mediates Smad-independent activation of JNK and p38 by TGF-beta. *Mol Cell* 2008;31(6):918–24. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.09.002
45. Paplomata E., O'Regan R. The PI3K/AKT/mTOR pathway in breast cancer: targets, trials and biomarkers. *Ther Adv Med Oncol* 2014;6(4):154–66. DOI: 10.1177/1758834014530023
46. Backer J.M. The regulation and function of Class III PI3Ks: novel roles for Vps34. *Biochem J* 2008;410(1):1–17. DOI: 10.1042/BJ20071427
47. Vadas O., Burke J.E., Zhang X. et al. Structural basis for activation and inhibition of class I phosphoinositide 3-kinases. *Sci Signal* 2011;4(195):re2. DOI: 10.1126/scisignal.2002165
48. Brown J.R., Auger K.R. Phylogenomics of phosphoinositide lipid kinases: perspectives on the evolution of second messenger signaling and drug discovery. *BMC Evol Biol* 2011;11:4–17. DOI: 10.1186/1471-2148-11-4
49. Yu X., Long Y.C., Shen H.M. Differential regulatory functions of three classes of phosphatidylinositol and phosphoinositide 3-kinases in autophagy. *Autophagy* 2015;11(10):1711–28. DOI: 10.1080/15548627.2015.1043076
50. Falasca M., Hughes W.E., Dominguez V. et al. The role of phosphoinositide 3-kinase C2alpha in insulin signaling. *J Biol Chem* 2007;282(38):28226–36. DOI: 10.1074/jbc.M704357200
51. Braccini L., Ciraolo E., Campa C.C. et al. PI3K-C2 γ is a Rab5 effector selectively controlling endosomal Akt2 activation downstream of insulin signalling. *Nat Commun* 2015;6:7400–15. DOI: 10.1038/ncomms8400
52. Backer J.M. The intricate regulation and complex functions of the Class III phosphoinositide 3-kinase Vps34. *Biochem J* 2016;473(15):2251–71. PMID: 35295334. DOI: 10.3389/fphar.2022.791272
53. Hinz N., Jücker M. Distinct functions of AKT isoforms in breast cancer: a comprehensive review. *Cell Commun Signal* 2019;17(1):154–82. DOI: 10.1186/s12964-019-0450-3
54. Kim C.Y., Kim Y.C., Oh J.H. et al. HOXA5 confers tamoxifen resistance via the PI3K/AKT signaling pathway in ER-positive breast cancer. *J Cancer* 2021;12(15):4626–37. DOI: 10.7150/jca.59740
55. Hamadneh L., Bahader M., Abuarqoub R. et al. PI3K/AKT and MAPK1 molecular changes preceding matrix metalloproteinases overexpression during tamoxifen-resistance development are correlated to poor prognosis in breast cancer patients. *Breast Cancer* 2021;28(6):1358–66. DOI: 10.1007/s12282-021-01277-2
56. Tanic N., Milovanovic Z., Tanic N. et al. The impact of PTEN tumor suppressor gene on acquiring resistance to tamoxifen treatment in breast cancer patients. *Cancer Biol Ther* 2012;13(12):1165–74. DOI: 10.4161/cbt.21346
57. Hamadneh L., Abuarqoub R., Alhusban A. et al. Upregulation of PI3K/AKT/PTEN pathway is correlated with glucose and glutamine metabolic dysfunction during tamoxifen resistance development in MCF-7 cells. *Sci Rep* 2020;10:21933–40. DOI: 10.1038/s41598-020-78833-x
58. Baba A.B., Rah B., Bhat G.R. et al. Transforming growth factor-beta (TGF- β) signaling in cancer-A betrayal within. *Front Pharmacol* 2022;13:791272–87. DOI: 10.3389/fphar.2022.791272
59. Bakin A.V., Tomlinson A.K., Bhowmick N.A. et al. Phosphatidylinositol 3-kinase function is required for transforming growth factor beta-mediated epithelial to mesenchymal transition and cell migration. *J Biol Chem* 2000;275(47):36803–10. DOI: 10.1074/jbc.M005912200
60. Jechlinger M., Sommer A., Moriggl R. et al. Autocrine PDGFR signaling promotes mammary cancer metastasis. *J Clin Invest* 2006;116(6):1561–70. DOI: 10.1172/JCI24652
61. Yi J.Y., Shin I., Arteaga C.L. Type I transforming growth factor beta receptor binds to and activates phosphatidylinositol 3-kinase. *J Biol Chem* 2005;280(11):10870–76. DOI: 10.1074/jbc.M413223200
62. Viñals F., Pouyssegur J. Transforming growth factor beta1 (TGF-beta1) promotes endothelial cell survival during in vitro angiogenesis via an autocrine mechanism implicating TGF-alpha signaling. *Mol Cell Biol* 2001;21(21):7218–30. DOI: 10.1128/MCB.21.21.7218-7230.2001

63. Valderrama-Carvajal H., Cocolakis E., Lacerte A. et al. Activin/TGF-beta induce apoptosis through Smad-dependent expression of the lipid phosphatase SHIP. *Nat Cell Biol* 2002;4(12):963–9. DOI: 10.1038/ncb885
64. Conery A.R., Cao Y., Thompson E.A. et al. Akt interacts directly with Smad3 to regulate the sensitivity to TGF-beta induced apoptosis. *Nat Cell Biol* 2004;6(4):366–72. DOI: 10.1038/ncb1117
65. Perry R.R., Kang Y., Greaves B.R. Relationship between tamoxifen induced transforming growth factor beta 1 expression, cytostasis and apoptosis in human breast cancer cells. *Br J Cancer* 1995;72(6):1441–6. DOI: 10.1038/bjc.1995.527
66. Fry M.J. Phosphoinositide 3-kinase signalling in breast cancer: how big a role might it play? *Breast Cancer Res* 2001;3(5):304–12. DOI: 10.1186/bcr312
67. Jordan N.J., Gee J.M., Barrow D. et al. Increased constitutive activity of PKB/Akt in tamoxifen resistant breast cancer MCF-7 cells. *Breast Cancer Res Treat* 2004;87(2):167–80. DOI: 10.1023/B:BREA.0000041623.21338.47
68. Дронова Т.А., Бабышкина Н.Н., Завьялова М.В. и др. Взаимосвязь компонентов EGFR/PI3K/Akt-сигнального пути с эффективностью терапии тамоксифеном у больных эстрогензависимым раком молочной железы. *Успехи молекулярной онкологии* 2018;5(3):40–50. DOI: 17650/2313-805X-2018-5-3-40-50
- Dronova T.A., Babushkina N.N., Zavyalova M.V. et al. Relation of EGFR/PI3K/AKT signaling components with tamoxifen efficacy in patients with estrogen-dependent breast cancer. *Uspëhi Molekulârnoy Onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2018;5(3):40–50. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-3-40-50
69. Frogne T., Jepsen J.S., Larsen S.S. et al. Antiestrogen-resistant human breast cancer cells require activated protein kinase B/Akt for growth. *Endocr Relat Cancer* 2005;12(3):599–614. DOI: 10.1677/erc.1.00946
70. Beeram M., Tan Q.T., Tekmal R.R. et al. Akt-induced endocrine therapy resistance is reversed by inhibition of mTOR signaling. *Ann Oncol* 2007;18(8):1323–8. DOI: 10.1093/annonc/mdm170
71. Дронова Т.А., Бабышкина Н.Н., Слонимская Е.М. и др. Рецептор трансформирующего фактора роста II типа (TGFβR2) и pAKT: связь с формированием резистентного к гормонотерапии фенотипа эстроген-позитивных опухолей молочной железы. В кн.: VII Петербургский международный онкологический форум «Белые ночи 2021». Материалы VII Петербургского международного онкологического форума. Санкт-Петербург, 2021. С. 255.
- Dronova T.A., Babushkina N.N., Slonimskaya E.M. et al. Transforming growth factor receptor type II (TGFβR2) and pAKT: association with hormone-resistant phenotype in estrogen receptor-positive breast cancer. V knige: VII Peterburgskij mezhdunarodnyj onkologicheskij forum «Belye Nochi 2021». Materialy VII Peterburgskogo mezhdunarodnogo onkologicheskogo foruma. Sankt-Peterburg. In: VII St. Petersburg International Oncology Forum “White Nights 2021”. Materials of the VII St. Petersburg International Oncology Forum. Saint Petersburg, 2021. P. 255. (In Russ.).
72. Fan M., Yan P.S., Hartman-Frey C. et al. Diverse gene expression and DNA methylation profiles correlate with differential adaptation of breast cancer cells to the antiestrogens tamoxifen and fulvestrant. *Cancer Res* 2006;66(24):11954–66. DOI: 10.1158/0008-5472
73. Radiation therapy and M7824 in treating patients with metastatic hormone receptor positive, HER2 negative breast cancer. Available at: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03524170>.
74. Formenti S.C., Lee P., Adams S. et al. Focal irradiation and systemic TGFβ blockade in metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2018;24(11):2493–2504. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3322
75. Jung S.Y., Yug J.S., Clarke J.M. et al. Population pharmacokinetics of vactosertib, a new TGF-β receptor type I inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 2020;85(1):173–83. DOI: 10.1007/s00280-019-03979-z
76. Baselga J., Im S.A., Iwata H. et al. Buparlisib plus fulvestrant versus placebo plus fulvestrant in postmenopausal, hormone receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (BELLE-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017;18(7):904–16. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30376-5
77. Di Leo A., Johnston S., Lee K.S. et al. Buparlisib plus fulvestrant in postmenopausal women with hormone-receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer progressing on or after mTOR inhibition (BELLE-3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2018;19(1):87–100. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30688-5
78. Krop I.E., Mayer I.A., Ganju V. et al. Pictilisib for oestrogen receptor-positive, aromatase inhibitor-resistant, advanced or metastatic breast cancer (FERG1): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17(6):811–21. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)00106-6
79. Baselga J., Dent S.F. Phase III study of taselelisib (GDC-0032) + fulvestrant (FULV) v FULV in patients (pts) with estrogen receptor (ER)-positive, PIK3CA-mutant (MUT), locally advanced or metastatic breast cancer (MBC): primary analysis from SANDPIPER. *J Clin Oncol* 2018;36(Suppl. 18):LBA1006. DOI: 10.1200/JCO.2018.36.18_suppl.LBA1006
80. Markham A. Alpelisib: first global approval. *Drugs* 2019;79(11):1249–53. DOI: 10.1007/s40265-019-01161-6
81. André F., Ciruelos E., Rubovszky G. et al. SOLAR-1 Study Group. Alpelisib for PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2019;380(20):1929–40. DOI: 10.1056/NEJMoa1813904
82. Lu Y.S., Lee K.S., Chao T.Y. et al. A Phase Ib study of alpelisib or buparlisib combined with tamoxifen plus goserelin in premenopausal women with HR-positive HER2-negative advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 2021;27(2):408–17. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-1008
83. ClinicalTrials.gov. to evaluate the safety, tolerability, and pharmacokinetics of inavolisib single agent in participants with solid tumors and in combination with endocrine and targeted therapies in participants with breast cancer. Available at: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03006172>
84. Jones R.H., Casbard A., Carucci M. et al. Fulvestrant plus capivasertib versus placebo after relapse or progression on an aromatase inhibitor in metastatic, oestrogen receptor-positive breast cancer (FAKTION): a multicentre, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2020;21(3):345–57. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30817-4
85. Ma C.X., Suman V., Goetz M.P. et al. A Phase II trial of neoadjuvant MK-2206, an AKT Inhibitor, with anastrozole in clinical stage II or III PIK3CA-mutant ER-positive and HER2-negative breast cancer. *Clin Cancer Res* 2017;23(22):6823–32. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1260

Вклад авторов

Н.Н. Бабышкина: написание текста статьи, редактирование;
И.А. Узьянбаев, Т.А. Дронова: поиск и обзор литературы по теме статьи, написание текста статьи;
Н.В. Чердынцева: редактирование.

Authors' contribution

N.N. Babyshkina: article writing, editing;
I.A. Uzyanbaev, T.A. Dronova: search and review of literature on the topic of the article, article writing;
N.V. Cherdyntseva: editing.

ORCID авторов / ORCID authors

Н.Н. Бабышкина / N.N. Babyshkina: <https://orcid.org/0000-0002-0562-3878>;
Т.А. Дронова / T.A. Dronova: <https://orcid.org/0000-0003-3009-2404>;
Н.В. Чердынцева / N.V. Cherdyntseva: <https://orcid.org/0000-0003-1526-9013>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа проведена с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук».

Funding. The work was carried out on the Core Facility "Medical Genomics" of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences.