

CORREGULADORES DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENOS Y SU IMPLICACIÓN EN EL CÁNCER MAMARIO

Ma. Yamilet Noriega-Reyes y Elizabeth Langley McCarron

Departamento Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas

RESUMEN •

EL RECEPTOR DE ESTRÓGENOS ALFA ($ER\alpha$) tiene un papel establecido en la biología del cáncer de mama. La activación transcripcional por $ER\alpha$ es compleja y es un proceso multietapas influenciado por la presencia de proteínas coactivadoras y correpresoras que pueden modularla positiva o negativamente. La desregulación de la expresión transcripcional de coactivadores y correpresores del receptor de estrógenos ha sido implicada en la resistencia a tamoxifén, sobre todo en pacientes con cáncer de mama ER positivos. En esta revisión se presentan algunos de los avances en el conocimiento, relacionados con la implicación de los correguladores en el desarrollo del cáncer de mama, así como en los mecanismos involucrados en la resistencia de este tipo de tumores a la terapia anti-hormonal.

Palabras clave: coactivadores, correpresores y receptor de estrógenos alfa ($ER\alpha$).

ABSTRACT •

Estrogen receptor alfa ($ER\alpha$) has an established role in breast cancer biology. Transcriptional activation by $ER\alpha$ is a complex and multistep process, and is influenced by coactivator and corepressor proteins that can either positively or negatively modulate $ER\alpha$ -mediated transcriptional activity. Deregulated expression of steroid receptor transcriptional coactivators and corepressors has been implicated in tamoxifen resistance, especially in ER positive breast cancer patients. In this review we present some of the advances in the knowledge, related to the implication of the corregulators in the development of the cancer of breast, as well as in the mechanisms involved in the resistance of this type of tumors to the anti-hormonal therapy.

Key words: coactivator, corepressor and estrogen receptor alfa ($ER\alpha$).



Correspondencia:

Ma. Yamilet Noriega-Reyes

Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología
San Fernando 22, Col. Sección XVI, Primer Piso. Edificio de Investigación

e-Mail: yamiletnoriega@gmail.com

FUNCIÓN DE LOS ESTRÓGENOS •

Los estrógenos pertenecen a la familia de hormonas esteroideas las cuales ejercen una gran variedad de efectos sobre el crecimiento, desarrollo y diferenciación de diferentes tejidos. La acción reguladora primaria de los estrógenos está restringida principalmente a los órganos reproductivos; sin embargo, pueden regular otros procesos en tejidos como hueso, hígado, sistema cardiovascular y cerebro (1). El mecanismo de acción de este esteroide se lleva a cabo a través de su unión a un factor de transcripción específico localizado en el citoplasma y núcleo celular denominado receptor de estrógenos (ER) (2) el cual regula la actividad de genes blanco para esta hormona.

RECEPTORES A HORMONAS ESTEROIDES •

El receptor de estrógenos pertenece a una superfamilia de receptores nucleares (NR) los cuales son factores de transcripción que regulan la expresión génica de manera dependiente de su unión a ligando y en respuesta específica a señales fisiológicas y patológicas. Estas proteínas poseen unidades estructurales y funcionales bien definidas (3,4). La relación evolutiva entre los receptores esteroideos/nucleares ha sido deducida por la alta conservación en sus dominios de unión al DNA (DBDs) y en un menor grado por sus dominios de unión al ligando (LBDs), indicando que este gran grupo de proteínas provino de una molécula común hereditaria (5).

RECEPTOR DE ESTRÓGENOS •

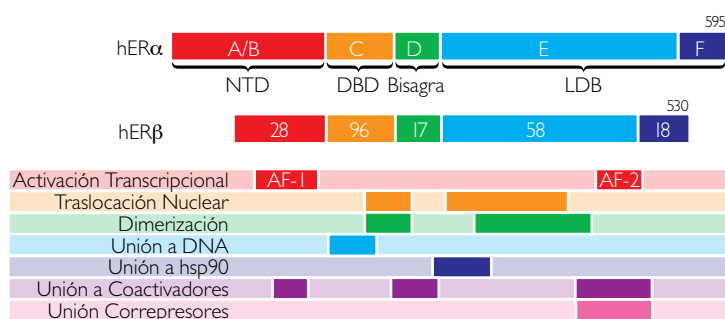
Actualmente se han identificado dos receptores de estrógenos conocidos como ER α y ER β , formados por una sola cadena de 565 y 530 aminoácidos, respectivamente (6). Existe un tercero y nuevo receptor de estrógenos intracelular transmembranal (7TMR), conocido como GPR30, que actúa de manera independiente de ER α y ER β , pero influye en la activación del factor de crecimiento epidermal (EGF), pudiendo así participar

en la biología del cáncer de mama (7). Este receptor deberá ser tomado en cuenta para usarlo en un futuro como candidato a terapia hormonal, en cuanto se conozca mejor su biología.

ER α y ER β son codificados por diferentes genes y su expresión varía dependiendo del tipo de tejido. ER α es expresado predominantemente en órganos reproductivos (útero, mama y ovario), así como en el hígado y en el sistema nervioso central, en tanto que la forma β es expresada mayoritariamente en otros tejidos como hueso, endotelio, pulmones, tracto urogenital, ovario, sistema nervioso central y próstata (8,9,10).

Estos receptores, están conformados por seis dominios denotados de la A a la F, codificados por 8-9 exones (11) (Fig. 1). Ambos tienen un dominio central de unión al DNA (DBD) muy conservado que mediante dos “dedos de zinc”, se une a secuencias específicas en el promotor o a los sitios “enhancer” de genes regulados por estrógenos (12). La región carboxilo-terminal del receptor constituye el dominio de unión a ligando (LBD) el cual reconoce a los estrógenos naturales como 17 β -estradiol (E2) y a ligandos sintéticos que pueden ser antagonistas totales o SERMs (Moduladores Selectivos del ER), que pueden activar o inhibir al receptor dependiendo del contexto celular y del promotor.

Adicionalmente, el LBD contiene una región de localización nuclear, regiones de homodimerización y un dominio de transactivación denominado AF-2, el cual es dependiente de ligando. La interacción con E2 activa al receptor promoviendo una serie de cambios conformacionales que incluyen dimerización, localización nuclear y muy importante una superficie sobre la región AF-2 que promueve su interacción con coactivadores transcripcionales (13). Entre el DBD y el LBD existe una región variable denominada bisagra. La región amino-terminal es la más variable entre los miembros de la familia, tanto en tamaño como en secuencia de aminoácidos, y contiene una región de transactivación denominada AF-1, la cual es

**FIGURA 1 •**

Estructura de los receptores de estrógenos alfa y beta (ERα y ERβ)

ligando-independiente. Las regiones AF-1 y AF-2 pueden activar la transcripción de manera independiente o sinérgica dependiendo del contexto celular y del promotor (14). Por último, en la región N-terminal existen diversos sitios de fosforilación, los cuales son regulados por una variedad de proteínas cinasas (15) (Fig. 1). El papel que tiene la fosforilación en la actividad de los receptores nucleares no está completamente definido, pero probablemente está involucrada en la modulación de la actividad de AF-1 y su interacción con correuladores, así como en la intercomunicación con otras vías de transducción de señales. Se ha visto que la fosforilación del ER puede relacionarse con su unión a sus elementos de respuesta a estrógenos (ERE). Todos los receptores de esteroides, incluyendo el ERα (16), son fosforilados después de la unión a sus ligandos respectivos (17).

REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN GÉNICA MEDIADA POR EL ER •

La mínima secuencia consenso ERE, es una repetición palindrómica invertida (IR): 5'-GGTCAnnnTGACC-3', donde n es cualquier nucleótido (18), y se diferencia en sólo 2 pb del GRE (elementos de respuesta a glucocorticoides) (19). La secuencia palindrómica de los ERE tiene un tamaño aproximado de 17pb, sin embargo, las secuencias flanqueantes son importantes para determinar la afinidad con la cual ER se une a éstas. La mayoría de los genes que responden a estrógenos presentan secuencias imperfectas no-palindrómicas (20). Se han localizado EREs funcionales en promotores de genes humanos como

pS2 (21), oxitocina (22), c-fos (23), c-myc (24), TGF-α (25), lactoferrina (26), prolactina (27), PR (28), catepsina D (29), y complemento 3 (30). ERα al unirse a ERE provoca una curvatura del DNA sobre el surco mayor (31). Esta conformación del DNA, facilita las interacciones entre los componentes del complejo de transcripción basal y el promotor del gen blanco, también permite la entrada de otras proteínas, incluyendo a correuladores, que pueden estabilizar estas interacciones y promover la iniciación de la transcripción. Una vez que el complejo de iniciación está completo, la RNA polimerasa II es reclutada y activada, y se inicia la transcripción (13).

MECANISMOS PROPUESTOS PARA LA ACTIVACIÓN TRANSCRIPCIONAL POR EL RECEPTOR DE ESTRÓGENOS •

Actualmente se reconocen cuatro mecanismos mediante los cuales el receptor de estrógenos regula el crecimiento y proliferación celular (32):

- I. Activación dependiente del ligando:** La unión de ligando activa al ER induciendo interacción con el DNA y activación transcripcional de genes blanco.
- II. Activación independiente de ligando:** Varias cinasas de las redes de señalización de factores de crecimiento logran activar al ER y sus proteínas correuladoras en ausencia de ligando.
- III. Activación independiente de la unión del complejo hormona-receptor a su elemento de respuesta específico sobre el DNA.** El ER unido a su ligando puede activar promotores mediante su unión a otros factores de transcripción, como AP-1, utilizando los sitios de unión a DNA de éstos.
- IV. Señalización no-genómica (ER de membrana):** Activación de otras cascadas de transducción de señales por medio de un receptor estrógeno-regulado anclado a la membrana (GPR30).

Es claro que los cuatro mecanismos interactúan para llevar a cabo la regulación hormonal de un tejido blanco, sin embargo, la regulación de cada uno de estos mecanismos y cómo interactúan entre ellos no se conoce en su totalidad.

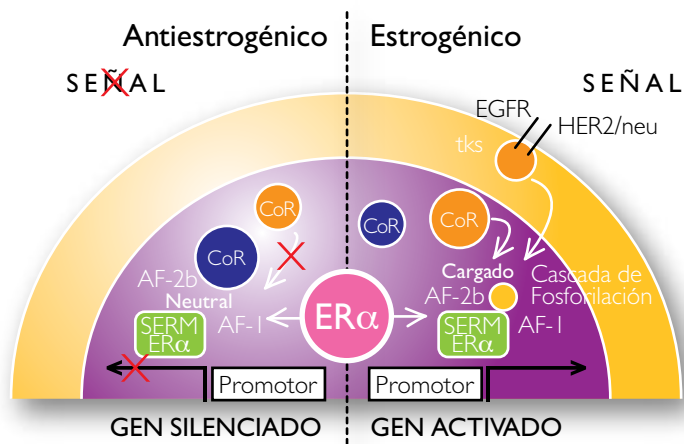


FIGURA 2 •

Vías de señalización del ER (Modificado, 35)

El mecanismo clásico de acción dependiente del ligando ha sido el más estudiado (Fig. 2). El receptor de estrógenos, en ausencia de ligando, se encuentra mayoritariamente en el núcleo, en un complejo inactivo con proteínas de choque térmico como Hsp90 y Hsp70. Cuando se une a un estrógeno, el ER se activa, disociándose de las proteínas de choque térmico, y sufre varios cambios conformacionales para lograr la unión con sus elementos de respuesta sobre el DNA en las regiones reguladoras de genes blanco. Los receptores unidos al DNA reclutan a los factores basales de transcripción y la RNA polimerasa II por medio de su interacción directa o por medio de proteínas intermediarias (33). El conjunto ER-coactivador regula el acceso a la cromatina y estabilizan el complejo de preiniciación transcripcional. La transcripción de muchos genes se incrementa en presencia de estradiol, sin embargo la transcripción de otros es inhibida (34). En su mayoría, los genes regulados positivamente están involucrados en proliferación y progresión del ciclo celular, mientras que aquellos que son regulados negativamente tienen que ver con apoptosis y regulación antiproliferativa.

FUNCIÓN DE LOS CORREGULADORES EN LA ACTIVIDAD DEL RECEPTOR •

Los correguladores son proteínas que interactúan con factores de transcripción y modulan su actividad positiva o negativamente, y que desde

un punto de vista funcional se clasifican en dos tipos: coactivadores o correpresores.

Los coactivadores, por definición, no interactúan directamente con el DNA pero lo hacen de manera indirecta a través de su asociación con factores de transcripción, entre los que se encuentra el receptor de estrógenos. Se sabe que la unión del ligando al ER genera un cambio conformacional en su LBD, formando una cavidad hidrofóbica que permite la interacción con coactivadores a través de una secuencia o motivo LxxLL (donde L es leucina y x es cualquier aminoácido) llamada caja NR (36). Esta caja NR está presente en una o varias copias en un gran número de coactivadores. Los coactivadores usualmente se presentan en complejos multiprotéicos que interactúan con factores de transcripción y modifican la cromatina para facilitar la transcripción, a través de mecanismos de remodelación de cromatina, acetilación y metilación de histonas. Adicionalmente, los coactivadores facilitan el reclutamiento de la maquinaria general de la transcripción y están involucrados en la activación de Pol II. Adicionalmente, cada vez se encuentran más proteínas que modulan positivamente la actividad de factores transcripcionales mediante otros mecanismos que incluyen la estabilización de los complejos sobre el DNA y la estabilización del mRNA, así como regulación del recambio de complejos proteicos sobre los promotores (13,37).

Cuando los receptores nucleares (RN) actúan como represores transcripcionales, los correpresores tienen un papel importante en esta regulación negativa. Muchos de los RN reprimen la transcripción en ausencia de su ligando o en presencia de ligandos antagonistas, como el tamoxifén. Esta regulación negativa está mediada en parte por los correpresores. La unión de antiestrógenos causa un cambio conformacional en AF-2 diferente al creado por la unión de ligandos agonistas lo cual bloquea la interacción con coactivadores de AF-2 y permite la entrada de correpresores. Los correpresores se unen a los receptores por medio de una caja CoRNR que

tiene una secuencia similar a las cajas RN: LxxxI/HlxxxI/L. La expresión de algunos correpresores es muy alta en tejidos que responden al estímulo hormonal. Por ejemplo, algunos correpresores como LCoR (38), RIP140 (39), SAFB1/2(40), y FKHR (41), son abundantes principalmente en cerebro y en órganos reproductivos. Los correpresores presentan modificaciones postraduccionales como fosforilación, acetilación y proteólisis. Además pueden translocarse del citoplasma al núcleo con facilidad y viceversa, lo que hace suponer que pueden controlar una amplia gama de procesos en el desarrollo fisiológico y metabólico (37,42).

Los *correpresores* forman parte de complejos multiprotéicos y reclutan desacetilasas de histonas (HDAC) que evitan el acceso a factores de transcripción críticos sobre el templado, y así se ve reprimida la transcripción. El reclutamiento de complejos que contienen HDAC está implicado en la represión por un número de silenciadores en mamíferos (43). Existen otros represores que inhiben la actividad transcripcional de los receptores nucleares mediante diferentes mecanismos. Estos incluyen interrumpir la unión al DNA o la translocación al núcleo del receptor, inhibir las interacciones entre los receptores y sus coactivadores o interrumpir el reclutamiento de la maquinaria basal de transcripción (44).

COACTIVADORES •

Los coactivadores, pueden presentar uno o varios tipos de mecanismos de acción sobre ER, de los cuales podemos mencionar los siguientes (Fig. 3):

a) Remodeladores y modificadores de cromatina: la cromatina juega un papel importante en la regulación de la actividad basal de muchos promotores, y moléculas diseñadas para vencer las coacciones termodinámicas que esto produce, son reclutadas en un punto temprano en el modelo de acción del ER (ver fig. 3a). Quizás el mejor caracterizado entre estas moléculas es el complejo de proteínas SWI/SNF que relajan la cromatina con gasto de ATP. Mutantes afectados

en la unidad de ATPasa, no pueden acoplar la función transcripcional de ciertos RN en cultivo celular (45). Otras proteínas implicadas en el remodelamiento de cromatina son Su (var) 3-9/enhancer de zeste/trithorax (SET) que contiene un dominio de unión a los RN y al factor intermediario de la transcripción 1 α (TIF1- α).

b) Actividad de acetilasa de histonas: las histonas mantienen un ambiente heterocromático (represivo de transcripción), esto debido a las cargas electrostáticas, conferidas por un lado por las cargas positivas de las lisinas de histonas y por otro por las cargas negativas de los grupos fostato del DNA (Fig. 3). Miembros de la familia SRC y proteínas que interactúan con CREB (CBP) y p300, poseen actividad como acetilasas de histonas. Son consideradas como las responsables de interrumpir las interacciones que mantienen la región del promotor en un estado cerrado, es decir relajan la cadena del DNA (46,47), convirtiendo un ambiente heterocromático en eucromático, promoviendo así el inicio de la transcripción.

c) Actividad de metilasa: en regiones “silenciosas”, donde el DNA está fuertemente empaquetado por la histona H3, los genes están inactivados. Por el contrario, en las regiones activas donde los genes se expresan, existe una variedad levemente

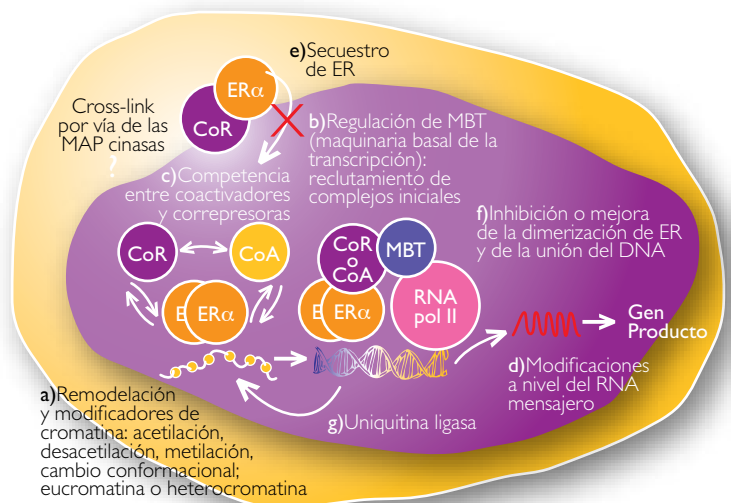


FIGURA 3 •
Mecanismos de acción de los correpladores del receptor de estrógenos alfa (ER α)

distinta de la histona H3, esta diferencia se debe a que la histona H3 tiene metilado el aminoácido lisina de la posición 9 en regiones cerradas, mientras en las regiones activas o abiertas tiene metilado la lisina 4 (48). Además de las marcas sobre las lisinas, también puede existir metilación sobre las argininas, como es el caso del coactivador metiltransferasa arginina 1 (PRMT1) que metila la arginina 3 de la histona 4, que es una marca de cromatina abierta, PRMT1 interacciona con el receptor X Farnesilo (FXR)/9-cis receptor X retinoide, receptores que regulan la transcripción de genes involucrados con el colesterol (49). Otro ejemplo es la metil-transferasa arginina 2 (PRMT2), que interacciona con ER α , activando la transcripción de genes blanco de E2 (50) (Fig. 3a).

d) Adaptadores de MBT (Maquinaria basal de la Transcripción) (Fig. 3b): los coactivadores pueden estabilizar la unión o ayudar a reclutar factores de transcripción basal, ya que presentan interacción directa con complejos iniciadores como es el caso de las proteínas asociadas al receptor de hormona tiroides (TRAPs) (51) y las proteínas que interactúan con la vitamina D (DRIP). Algunos estudios han demostrado que complejos que contienen TRAP/DRIP son capaces de mejorar la actividad transcripcional de varios tipos de receptores. Una mutación en el complejo TRAP/DRIP, causa mortalidad embrionaria, atribuida a una variedad de anormalidades pleiotrópicas, incluyendo defectos en la regulación del ciclo celular y aumento en la apoptosis (52).

e) Actividad de Ubiquitina ligasa: algunos coactivadores pueden reclutar a enzimas con actividad de ligasas de ubiquitina, como es el caso de E6-AP que estimula la transcripción por medio de ER α de manera dependiente al ligando (Fig. 3g) (53). Este corregulador está involucrado en marcar un sustrato para ser procesado por el sistema de degradación ubiquitina-proteasoma (54) y así renovar el ciclo transcripcional de los genes blanco. Este proceso asegura el recambio de los complejos de la transcripción unidos a los promotores blanco.

f) Adaptadores de splicing: aun no está bien dilucidado este mecanismo (Fig. 3d); sin embargo, se ha sugerido que proteínas como la helicasa p72 o el coactivador PGC-1, puedan estar involucradas en este tipo de procesamiento del mRNA en algunos genes blanco para estrógenos (55,56).

CORREPRESORES

Los correpresores no solo actúan modificando la cromatina, sino que pueden hacerlo a través de otros mecanismos (Fig. 3), los cuales se describen a continuación:

1. Remodelación de cromatina: mecanismo por el cual se mantiene una heterocromatina (cromatina cerrada), evitando así la transcripción de genes susceptibles a E2. Para ello la cromatina sufre tanto cambios estructurales como bioquímicos (ver Fig. 3a). Actividades de HDAC (desacetilasas de histonas) o metilación de histonas y/o DNA, evitan la entrada de los complejos transcripcionales sobre el promotor cerrado. NCoR y SMRT, reclutan complejos con actividad HDAC (57). También NCoR, puede interactuar con SAP (Proteína asociada a SIN) y NURD (remodeladora de nucleosomas y desacetilasa de histonas) (58). El correpresor de ER α , BRCA-1, recluta a la proteína CtBP, que media la represión a través del reclutamiento de HDACs y las proteínas del complejo policomb (Pcb) (59). Otros coactivadores con actividad de HDAC son, RIP140 (60), LCoR (38), MTA1 (61), y TR2 (62).

2. Regulación de la maquinaria basal de la transcripción: uno de los mecanismos involucrados en la actividad represora de los RN es mediada por el efecto que los correpresores ejercen sobre la maquinaria basal transcripcional (Fig. 3a), por ejemplo, NCoR interactúa con factores de transcripción basal, como son TFIIB, TAFII32 y TAFII70, impidiendo que las uniones entre estos factores sean estables (63). Adicionalmente, BRCA-1 se ha encontrado presente en el complejo de la holoenzima RNA pol II. SAFBI se une al dominio C-terminal de la RNA pol II

(64). Estas interacciones hacen suponer que los correpresores, pudieran intervenir en la función e inhibir la acción de la maquinaria basal de la transcripción, y así evitar la transcripción de genes blancos ER-dependientes.

3. Competencia con proteínas coactivadoras:

los correpresores compiten con los coactivadores por los sitios de unión en los RN (Fig. 3c). Ejemplos claros de competencia directa son REA y SHP que compiten con los coactivadores SRC-1 y TIF-2, respectivamente (65,66). RIP140 y TIF2 han mostrado competencia por la unión a c-Jun y a ER α , para modular la actividad transcripcional E2-dependiente por medio de AP-1 (67). Sin embargo, también puede existir competencia indirecta como en el caso de SHARP que puede unirse al mRNA del coactivador SRA, conduciendo a la inhibición de la traducción del coactivador y a que esto tenga como consecuencia una disminución en la actividad de ER (68). Otro ejemplo es el del correpresor erbB2, que se expresa en ausencia de estrógenos o en presencia de antiestrógenos, el cual secuestra a SRC-1 (69).

4. Procesamiento de RNA: Se ha demostrado que las hormonas esteroideas pueden afectar el procesamiento del RNA y que los corre reguladores pueden estar íntimamente relacionados en estos procesos (Fig. 3d) (70). Aún cuando no se conoce mucho sobre este mecanismo, se ha demostrado en diferentes correpresores la presencia de motivos de unión a RNA (RRM), tal es el caso de SHARP, RTA y SAFB1/2 (30,68,71).

5. Secuestro del ER en el citoplasma: una medida para evitar que ER α actúe sobre su gen blanco, es evitar la entrada de este al núcleo, tal es el caso del corre regulador MTA1s, que secuestra al ER α antes de su translocación al núcleo (Fig. 3e) (72).

6. Bloqueo de la dimerización de ER y su unión al DNA: como ya se mencionó, es necesario que el ER forme dímeros o heterodímeros para poder ser activado y unirse a los promotores blancos (Fig. 3f). Corre reguladores como TR2

y SHP, inhiben la dimerización de ER α y otros como SHP, TR2 o p53, evitan la unión del ER α al DNA (65,73,74).

También existen otros tipos de mecanismos por los cuales los correpresores podrían influir sobre la actividad de ER. BRCA-1 y NEDD8, desestabilizan al ER α (75,76) o simplemente actúan como proteínas de andamiaje para reclutar complejos multiprotéicos inhibidores como es el caso del correpresor SHARP (68).

Conforme se ha incrementado el conocimiento sobre la función de los corre reguladores, se ha logrado un mayor entendimiento sobre su papel en la regulación de la función del receptor de estrógenos en presencia de ligandos agonistas y antagonistas. Variaciones en el reclutamiento de coactivadores y/o disociación de correpresores, dependiendo del tipo de ligando, podrían determinar una flexibilidad en la activación transcripcional mediada por estos receptores. Varios estudios demuestran que cambios en la expresión de coactivadores o correpresores dentro de una célula pueden regular la respuesta a fármacos conocidos como SERMs (Selective estrogen receptor modulators) dependiendo del contexto del promotor del gen blanco y del tipo celular.

CÁNCER DE MAMA Y RELACIÓN CON LA REGULACIÓN DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENOS.

De acuerdo con cifras del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), hasta hace tres años, por cada 100 ingresos hospitalarios asociados a la presencia de algún tumor maligno en mujeres, 36 eran de mama. El cáncer de mama se enlista entre las principales afecciones oncológicas que presentan las mujeres. Los factores hereditarios, el uso indebido de hormonas sintéticas, la edad avanzada durante el primer parto o abstenerse de embarazarse, así como el abuso de alcohol, tabaco u otras drogas, son algunos de los factores de riesgo asociados al desarrollo de este tipo de cáncer.

Los receptores de estrógenos (ERs) juegan un papel crítico en la fisiopatología del cáncer de mama. La expresión de ER α es factor de buen pronóstico en pacientes de cáncer de mama; sin embargo, el valor pronóstico del ER β aun no se ha definido. Recientemente, se ha reportado que ER β y varias de sus isoformas, pueden regular la actividad de ER α en cáncer de mama (77,78,79). Aproximadamente el 70% de los tumores de mama expresan ER, por lo que son candidatos para terapia anti-hormonal con moduladores selectivos del receptor de estrógenos. Los SERMs son ligandos antagonistas/agonistas parciales, cuya actividad depende del contexto celular y del promotor. La terapia endócrina constituye parte esencial del tratamiento tanto en el escenario adyuvante como en la enfermedad metastásica y es determinada por la expresión de los receptores de estrógenos (ER) y/o los receptores de progesterona (PR). Al momento se cuenta con dos recursos farmacológicos para reducir el efecto del estrógeno en las células tumorales: la inhibición de la acción del estrógeno con agentes antiestrogénicos y la prevención de la producción de estrógenos por medio de la inhibición de la enzima de la aromataza. Tamoxifén (TAM) adyuvante por 5 años es el tratamiento estándar para mujeres premenopáusicas que expresen ER y/o PR. En las mujeres posmenopáusicas los inhibidores de aromataza con o sin TAM son el nuevo estándar de manejo adyuvante (80).

Tamoxifén es un fármaco ampliamente utilizado para tratar todos los estadios de cáncer mamario en pacientes ER α positivo, así como para la prevención del cáncer en mujeres con alto riesgo de desarrollar la enfermedad (81) y es uno de los agentes de tratamiento oncológico más seguro, barato, bien tolerado y ante todo efectivo, demostrado por numerosos ensayos clínicos. El tamoxifén tiene efectos antagonistas en la glándula mamaria mientras muestra efectos agonistas en hueso y útero, eliminando así los efectos negativos sobre hueso que tendría un antagonista completo. Sin embargo, la mayoría de las pacientes con cáncer de mama ER α positivo, y que han respondido a terapia

con tamoxifén, desarrollan resistencia después de tratamientos prolongados, permitiendo que los tumores se desarrollen nuevamente y que la enfermedad se vuelva recurrente.

El mecanismo a través del cual se desencadena la resistencia en este tipo de cáncer, aún no se conoce y en la mayoría de los casos no se ha visto asociada con la pérdida de expresión o mutaciones del ER α (82). Por lo anterior, existe la hipótesis de que el mecanismo de resistencia a tamoxifén, puede deberse a modificaciones en la interacción del ER α con algunas proteínas correguladoras. Los correguladores juegan un papel importante en la transcripción mediada por ER por lo cual parece lógico pensar que un incremento en la concentración de coactivadores pudiera darle al tumor una ventaja selectiva para su proliferación. Cambios en la proporción relativa entre coactivadores y correpresores en células de cáncer de mama están implicados en la respuesta diferencial del ER a ligandos agonistas o antagonistas.

En este sentido, diferentes investigadores (13, 37, 44) han demostrado la existencia de algunos correguladores posiblemente involucrados con el desarrollo del cáncer mamario. Algunos de estos hallazgos se describen a continuación:

SRC1: se sobre-expresa en líneas celulares de cáncer de mama en respuesta a estradiol y contribuye a la actividad agonista de TAM en presencia de un AF1 intacto.

SRC3 (AIB1): juega un papel importante en varios tipos de cáncer. Se incrementa su expresión del 5 al 10% en cáncer de mama. La sobre-expresión de este coactivador incrementa la actividad agonista de tamoxifén en líneas celulares.

RIP-140: este cofactor incrementa la actividad transcripcional de ER α de manera E2-dependiente. En 30 tumores metastásicos de pacientes con cáncer de mama se identificó una mutante Tyr537Asn de RIP140, que mostró actividad transcripcional E2-independiente, esto indica que

esta mutación en particular puede desempeñar un papel en cáncer de mama metastásico, debido a que en ausencia de estradiol y presencia de antiestrógenos, puede activar a ER α , siendo de mal pronóstico para el tratamiento con tamoxifén.

PBP: esta proteína funciona como un coactivador del ER α y se encuentra amplificada tanto en tumores mamarios, como en diferentes líneas celulares de cáncer de mama humanas. Estos resultados sugieren que la sobre-expresión de PBP puede ser usada como un marcador molecular en cáncer de mama.

MTAI, MTAIs, DP97, BRCAI: la sobreexpresión de estos correpresores disminuye la actividad transcripcional del ER α y su desregulación puede conducir a alteraciones importantes en la respuesta de estrógeno.

DP97: confiere represión transcripcional sobre los genes inducibles por estrógenos, una menor expresión de este correpresor disminuye la represión de oncogen *erbB2* (*HER2*), el cual es un factor pronóstico en pacientes con cáncer de mama.

NCoR, SMRT, REA, RTA, SAFBI: la sobreexpresión de estos correpresores incrementa la actividad antagonista de TAM y una delección en estos disminuye la actividad antagonista de TAM en líneas celulares de cáncer de mama, lo que indica que pueden usarse como factores de predicción para saber qué tipo de terapia es la adecuada para cada paciente, y si responderá favorablemente a terapia hormonal.

BRCAI, SAFBI: son también conocidos como genes supresores de tumor, ya que bloquean la progresión del ciclo celular. Además inhiben la activación transcripcional de ER α en ausencia de ligando, por lo que una desregulación de éstos, ya sea por una mutación o por una disminución en su expresión, provocaría proliferación y pérdida de diferenciación celular, dando pie al desarrollo de tumores celulares. *BRCA1* es conocido como un gen de susceptibilidad de cáncer de mama y mutaciones congénitas de este gen, que inhiben su

actividad como correpresor de ER, correlacionan con un alto riesgo de padecer esta enfermedad.

Aun, no se tiene claro el papel de muchos corre reguladores de ER α , pero el hecho de saber que éstos pueden modular la actividad del receptor, puede llevarnos a un nuevo nivel de terapia endocrina, en donde una detección oportuna de la desregulación de alguno de estos corre reguladores, nos oriente hacia qué tipo de tratamiento deben seguir los pacientes con cáncer de mama ER α (+) y sobre todo los pacientes recurrentes tratados con SERMs o antiestrógenos.

CONCLUSIONES

El cáncer de mama se ha convertido en el cáncer más comúnmente diagnosticado en mujeres en el mundo occidental. En estadios iniciales, el crecimiento y proliferación de los tumores de mama es dependiente de estrógenos y la actividad mediada por sus receptores específicos. Aproximadamente el 70% de los cánceres de mama expresan ER, por lo que son candidatos a la terapia endocrina con ligandos moduladores del ER llamados SERMs. Tamoxifén es el agente más ampliamente utilizado para el tratamiento del cáncer de mama. Inicialmente, la mayoría de las pacientes responden favorablemente ante el tratamiento, sin embargo, eventualmente las pacientes adquieren resistencia a la terapia endocrina. Se han propuesto varias causas para explicar la resistencia endocrina y es probable que se deba a una combinación de factores. En la mayor parte de las pacientes con cáncer resistente a tratamiento, hay expresión de ER y de sus genes blancos. Sin embargo, cambios en la regulación del ER o de cualquiera de sus corre reguladores pueden inducir activación de ER aún en presencia de SERMs o antiestrógenos. Existen varios datos que apoyan el papel de los corre reguladores en el desarrollo del cáncer de mama y su progresión a la resistencia endocrina después de terapia antihormonal. Se ha visto que el incremento de coactivadores o inhibición de correpresores, juega un papel importante en la resistencia al tamoxifén y el desarrollo del cáncer. Inicialmente, la expresión

aberrante de correguladores podría ser utilizada como un marcador pronóstico suplementario para determinar la efectividad de la terapia endocrina o para monitorear la progresión del cáncer. Es necesario continuar estudiando e investigando los mecanismos por los cuales los correguladores modulan la actividad de los receptores de estrógeno, tanto alfa como beta, y determinar su papel en el desarrollo de condiciones patológicas para poder así explotar esta información para el desarrollo diagnósticos más eficientes y el desarrollo de terapias novedosas para el cáncer de mama.

REFERENCIAS •

1. Katzenellenbogen BS, Choi I, Delage-mourroux R, Ediger TR, Martini PGV, Montano M, Sun J, Weis K, Katzenellenbogen JA. Molecular mechanisms of estrogen action: selective ligands receptor pharmacology. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000; 74: 279–285 •
2. Couse JF, Korach KS. Estrogen receptor null mice: What have we learned and where will they lead us? *Endocr Rev* 1999; 20:358–417 •
3. Aranda A y Pascual A. Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiological Reviews* 2001; 81: 1269–1304 •
4. Krishnan V, Heath H y Bryant UH. Mechanism of action of estrogen and selective estrogen receptors modulators. *Vitamins and Hormones* 2001;60:123–147 •
5. Ogawa S, Inoue S, Watanabe T, Hiroi H, Orimao A. The complete primary structure of human estrogen receptor beta (hER beta) and its heterodimerization with ER alpha in vivo and in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;243:122–126 •
6. Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5925–5930 •
7. Filardo EJ, Graeber CT, Quinn JA, Resnick MB, Giri D, DeLellis RA, Steinhoff MM, Sabo E. Distribution of GPR30, a seven membrane-spanning estrogen receptor, in primary breast cancer and its association with clinicopathologic determinants of tumor progression. *Clin Cancer Res.* 2006;12:6359–6366 •
8. Nilsson S, Mäkelä S, Treuter E, Tjuange M, Thomsen J, Anderson G, et al. Mechanisms of estrogen action. *Physiol Rev* 2001;81:1535–1565 •
9. Anderson E. The role of oestrogen and progesterone receptors in human mammary development and tumorigenesis. *Breast Cancer Res* 2002;4:197–201.
10. Palmieri C, Cheng GJ, Saji S, Zelada-Hedman M, Warri A, Weiu Z, et al. Estrogen receptor beta in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2002; 9: 1–13 •
11. Kuiper GG, Shughrue PJ, Merchenthaler I, Gustafsson JA. The estrogen receptor beta subtype: a novel mediator of estrogen action in neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol* 1998;19:253–286 •
12. Klinge CM. Estrogen receptor interaction with estrogen response elements. *Nucleic Acids Research* 2001;29:2905–2919 •
13. Klinge CM. Estrogen receptor interaction with co-activators and co-repressors. *Steroid* 2000;65:227–251 •
14. Tzukerman MT, Esty A, Santiso-Mere D, Danielian P, Parker MG, Stein RB, Pike JW, McDonnell DP. Human estrogen receptor transactivational capacity is determined by both cellular and promoter context and mediated by two functionally distinct intramolecular regions. *Mol Endocrinol.* 1994;8:21–30 •
15. Kumar R, Thompson EB. Transactivation functions of the N-terminal domains of nuclear hormone receptors: protein folding and coactivator interactions. *Mol Endocrinol* 2003;17:1–10 •
16. Denton RR, Notides AC. Estrogen receptor phosphorylation. Hormonal dependence and consequence on specific DNA binding. *J Biol Chem* 1992;267:7263–7268 •
17. Weigel NL, Zhang Y. Ligand-independent activation of steroid hormone receptors. *J Mol Med* 1998;76:469–479 •
18. Klein-Hitpass L, Ryffel GU, Heitlinger E, Cato AC. A 13 bp palindrome is a functional estrogen responsive element and interacts specifically with estrogen receptor. *Nucleic Acids Res* 1988;16:647–663.
19. Klock G, Strahle U, Schutz G. Oestrogen and glucocorticoid responsive elements are closely related but distinct. *Nature* 1987;329:734–736 •
20. Driscoll MD, Sathya G, Muyan M, Klinge CM, Hilf R, Bambara RA. Sequence requirements for estrogen receptor binding to estrogen response elements. *J Biol Chem* 1998;273:29321–29330 •
21. Jeltsch JM, Roberts M, Schatz C, Garnier JM, Brown AM, Chambon P. Structure of the human oestrogen-responsive gene pS2. *Nucleic Acids Res* 1987;15:1401–1414 •
22. Richard S, Zingg HH. The human oxytocin gene promoter is regulated by estrogens. *J Biol Chem* 1990;265:6098–6103 •
23. Weisz A, Rosales R. Identification of an estrogen response element upstream of the human c-fos gene that binds the estrogen receptor and the AP-1 transcription factor. *Nucleic Acids Res* 1990;18:5097–6106 •
24. Weisz A, Bresciani F. Estrogen induces expression of c-fos and c-myc protooncogenes in rat uterus. *Mol Endocrinol* 1988;2:816–824.
25. El-Ashry D, Chrysogelos SA, Lippman ME, Kern FG. Estrogen induction of TGF- α is mediated by an estrogen response element composed of two imperfect palindromes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996;59:261–269 •
26. Teng CT, Liu Y, Yang N, Walmer D, Panella T. Differential molecular mechanism of the estrogen action that regulates lactoferrin gene in human and mouse. *Mol Endocrinol* 1992;6:1969–1981 •
27. Berwaer M, Martial JA, Davis JR. Characteriza-

tion of an up-stream promoter directing extrapituitary expression of the human prolactin gene. *Mol Endocrinol* 1994;8:635–642 •

28. Kraus WL, Montano MM, Katzenellenbogen BS. Identification of multiple, widely spaced estrogen-responsive regions in the rat progesterone receptor gene. *Mol Endocrinol* 1994;8:952–969 •

29. Augereau P, Miralles F, Cavailles V, Gaudalet C, Parker M, Rochefort H. Characterization of the proximal estrogen-responsive element of human cathepsin D gene. *Mol Endocrinol* 1994;8:693–703 •

30. Norris JD, Fan D, Wagner BL, McDonnell DP. Identification of the sequences within the human complement 3 promoter required for estrogen responsiveness provides insight into the mechanism of tamoxifen mixed agonist activity. *Mol Endocrinol* 1996;10:1605–1616 •

31. Kim J, DeHaan G, Nardulli AM, Shapiro DJ. Prebending the estrogen response element destabilized binding of the estrogen receptor DNA binding domain. *Mol Cell Biol* 1997;17:3173–3180 •

32. Hall JM, Couse JF, Korach KS. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J Biol Chem* 2001;276(40):36869–368672 •

33. Rosenfeld MG and Glass CK. Coregulator codes of transcriptional regulation by nuclear receptors. *J Biol Chem* 2001;274(40):36865–368668 •

34. Frasier J, Danes JM, Komm B, Chang KC, Lyttle CR, Katzenellenbogen BS. Profiling of estrogen up- and down-regulated gene expression in human breast cancer cells: insights into gene networks and pathways underlying estrogenic control of proliferation and cell phenotype. *Endocrinology* 2003;144:4562–4574 •

35. Jordan VC. The secrets of selective estrogen receptor modulation: cell-specific coregulation. *Cancer Cell* 2002;1:215–217 •

36. Heery DM, Kalkhoven E, Hoare S, Parker MG. A signature motif in transcriptional co-activators mediates binding to nuclear receptors. *Nature* 1997;387: 733–736 •

37. McKenna NJ and O'Malley BW. Combinatorial Control of Gene Expression by Nuclear Receptors and Coregulators. *Cell* 2002;108:465–474 •

38. Fernandes I, Bastien Y, Wai T, Nygard K, Lin R, Cormier O, Lee HS, Eng F, Bertos NR, Pelletier N et al. Ligand-dependent nuclear receptor corepressor LCoR functions by histone deacetylase-dependent and -independent mechanisms. *Molecular Cell* 2003;11 139–150 •

39. Parker M, Leonardsson G, White R, Steel J, Milligan S. Identification of RIP140 as a nuclear receptor cofactor with a role in female reproduction. *FEBS Letters* 2003;546 149–153 •

40. Townson SM, Dobrzycka KM, Lee AV, Air M, Deng W, Kang K, Jiang S, Kioka N, Michaelis K, Oesterreich S. SAFB2, a new scaffold attachment factor homolog and estrogen receptor corepressor. *Journal of Biological Chemistry* 2003;278:20059–20068 •

41. Zhao HH, Herrera RE, Coronado-Heinsohn E, Yang MC, Ludes-Meyers JH, Seybold-Tilson KJ, Nawaz Z, Yee D, Barr FG, Diab SG et al. Forkhead homologue in rhabdomyosarcoma functions as a bi-

functional nuclear receptor-interacting protein with both coactivator and corepressor functions. *Journal of Biological Chemistry* 2001;276:27907–27912 •

42. Hermanson O, Glass CK, Rosenfeld MG. Nuclear receptor coregulators: multiple modes of modification. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2002;13:55–60 •

43. Perissi V, Staszewski LM, McInerney EM, Kurokawa R, Kronen A, Rose DW, Lambert MH, Milburn MV, Glass CK, Rosenfeld MG. Molecular determinants of nuclear receptor-corepressor interaction. *Genes Dev* 1999;13:3198–3208 •

44. Dobrzycka KM, Townson SM, Jiang S, Oesterreich S. Estrogen receptor corepressors – a role in human breast cancer? *Endocr Relat Cancer* 2003;10:517–536 •

45. Wade PA, Wolffe AP. Transcriptional regulation: SWItching circuitry. *Curr Biol* 1999; 9: 221–224

46. Chen H, Lin RJ, Schiltz RL, Chakravarti D, Nash A, Nagy L, Privalsky ML, Nakatani Y, Evans RM. Nuclear receptor coactivator ACTR is a novel histone acetyltransferase and forms a multimeric activation complex with P/CAF and CBP/p300. *Cell* 1997;90:569–580 •

47. Spencer TE, Jenster G, Burcin MM, Allis CD, Zhou JX, Mizzen CA, McKenna NJ, Onate SA, Tsai SY, Tsai M-J, O'Malley BW 1997 Steroid receptor coactivator-1 is a histone acetyltransferase. *Nature* 389:194–198 •

48. Ken-ichi Noma, C. David Allis, and Shiv I. S. Grewal Transitions in Distinct Histone H3 Methylation Patterns at the Heterochromatin Domain Boundaries. *Science* 2001;1150–1155 •

49. Rizzo G, Renga B, Antonelli E, Passeri D, Pellicciari R, Fiorucci S. The methyl transferase PRMT1 functions as co-activator of farnesoid X receptor (FXR)/9-cis retinoid X receptor and regulates transcription of FXR responsive genes. *Mol Pharmacol.* 2005;68:551–558 •

50. Qi C, Chang J, Zhu Y, Yeldandi AV, Rao SM, Zhu YJ. Identification of protein arginine methyltransferase 2 as a coactivator for estrogen receptor alpha. *J Biol Chem.* 2002;277:28624–30 •

51. Fondell JD, Ge H, Roeder RG. Ligand induction of a transcriptionally active thyroid hormone receptor coactivator complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:8329–8333 •

52. Rachez C, Suldan Z, Ward J, Chang CP, Burakov D, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Freedman LP. A novel protein complex that interacts with the vitamin D3 receptor in a ligand-dependent manner and enhances VDR transactivation in a cell-free system. *Genes Dev* 1998;12:1787–1800 •

53. Nawaz Z, Lonard DM, Smith CL, et al. The Angelman syndrome-associated protein, E6-AP, is a coactivator for the nuclear hormone receptor Superfamily. *Mol Cell Biol* 1999;19:1182–1189 •

54. Patton EE, Willems AR, Tyers M. Combinatorial control in ubiquitin-dependent proteolysis: don't Skp the F-box hypothesis. *Trends Genet* 1998;14:236–243 •

55. Monsalve M, Wu Z, Adelmant G, Puigserver P, Fan M, Spiegelman BM. Direct coupling of transcription and mRNA processing through the thermogenic coactivator PGC-1. *Mol Cell* 2000;6:307–316 •

56. Hoening A, Auboeuf D, O'Malley BW, Berget S, Regulation of alternative splicing by the ATP-dependent DEAD box

- RNA helicase p72. *Mol Cell Biol* 2002;22:5698-5707 •
- 57.** Jepsen K y Rosenfeld MG. Biological roles and mechanistic actions of co-repressor complexes. *Journal of Cell Science* 2002;115:689-698 •
- 58.** Li J, Lin Q, Wang W, Wade P & Wong J. Specific targeting and constitutive association of histone deacetylase complexes during transcriptional repression. *Genes and Development* 2002;16: 687-692 •
- 59.** Chinnadurai G. CtBP, an unconventional transcriptional corepressor in development and oncogenesis. *Molecular Cell* 2002;9:213-224 •
- 60.** Wei LN, Hu X, Chandra D, Seto E, Farooqui M. Receptor-interacting protein 140 directly recruits histone deacetylases for gene silencing. *Journal of Biological Chemistry* 2000;275:40782-40787 •
- 61.** Mazumdar A, Wang RA, Mishra SK, Adam L, Bagheri-Yarmand R, Mandal M, Vadlamudi RK, Kumar R. Transcriptional repression of oestrogen receptor by metastasis-associated protein 1 corepressor. *Nature Cell Biology* 2001;3:30-37 •
- 62.** Franco PJ, Farooqui M, Seto E, Wei LN. The orphan nuclear receptor TR2 interacts directly with both class I and class II histone deacetylases. *Molecular Endocrinology* 2001;15:1318-1328 •
- 63.** Muscat GE, Burke LJ, Downes M. The corepressor N-CoR and its variants RIP13a and RIP13Delta1 directly interact with the basal transcription factors TFIIB, TAFII32 and TAFII70. *Nucleic Acids Research* 1998;26:2899-2907 •
- 64.** Nayler O, Stratling W, Bourquin JP, Stagljar I, Lindemann L, Jasper H, Hartmann AM, Fackelmayer FO, Ullrich A, Stamm S. SAF-B protein couples transcription and pre-mRNA splicing to SAR/MAR elements. *Nucleic Acids Research* 1998;26:3542-3549 •
- 65.** Johansson L, Thomsen JS, Damdimopoulos AE, Spyrou G, Gustafsson JA, Treuter E. The orphan nuclear receptor SHP inhibits agonist-dependent transcriptional activity of estrogen receptor alpha and beta. *Journal of Biological Chemistry* 1999;274:345-353 •
- 66.** Delage-Mourroux R, Martini PG, Choi I, Kraichely DM, Hoeksema J, Katzenellenbogen BS. Analysis of estrogen receptor interaction with a repressor of estrogen receptor activity (REA) and the regulation of estrogen receptor transcriptional activity by REA. *Journal of Biological Chemistry* 2000;275:35848-35856 •
- 67.** Teyssier C, Belguise K, Galtier F, Cavailles V, Chabos D. Receptor-interacting protein 140 binds c-jun and inhibits estradiol-induced activator protein-1 activity by reversing glucocorticoid receptor-interacting protein 1 effect. *Molecular Endocrinology* 2003;17:287-299 •
- 68.** Shi Y, Downes M, Xie W, Kao HY, Ordentlich P, Tsai CC, Hon M, Evans RM. Sharp, an inducible cofactor that integrates nuclear receptor repression and activation. *Genes and Development* 2001;15:1140-1151 •
- 69.** Newman SP, Bates NP, Vernimmen D, Parker MG & Hurst HC. Cofactor competition between the ligand-bound oestrogen receptor and an intron 1 enhancer leads to oestrogen repression of ERBB2 expression in breast cancer. *Oncogene* 2000;19:490-497 •
- 70.** Auboeuf D, Honig A, Berget SM, O'Malley BW. Coordinate regulation of transcription and splicing by steroid receptor coregulators. *Science* 2002;298:416-419 •
- 71.** Weighardt F, Cobianchi F, Cartegni L, Chiodi I, Villa A, Riva S, Biamonti G. A novel hnRNP protein (HAP/SAF-B) enters a subset of hnRNP complexes and relocates in nuclear granules in response to heat shock. *Journal of Cell Science* 1999;112:1465-1476.
- 72.** Kumar R, Wang RA, Mazumdar A, Talukder AH, Mandal M, Yang Z, Bagheri-Yarmand R, Sahin A, Hortobagyi G, Adam L et al. A naturally occurring MTA1 variant sequesters oestrogen receptor-alpha in the cytoplasm. *Nature* 2002;418:654-657 •
- 73.** Hu YC, Shyr CR, Che W, Mu XM, Kim E, Chang C. Suppression of estrogen receptor mediated transcription and cell growth by interaction with TR2 orphan receptor. *Journal of Biological Chemistry* 2002;277:33571-33579 •
- 74.** Liu Y, Asch H & Kulesz-Martin MF. Functional quantification of DNA-binding proteins p53 and estrogen receptor in cells and tumor tissues by DNA affinity immunoblotting. *Cancer Research* 2001;61 5402-5406 •
- 75.** Brzovic PS, Keeffe JR, Nishikawa H, Miyamoto K, Fox D 3rd, Fukuda M, Ohta T & Klevit R. 2003 Binding and recognition in the assembly of an active BRCA1/BARD1 ubiquitin-ligase complex. *PNAS* 100 5646-5651 •
- 76.** Fan M, Bigsby RM & Nephew KP. The NEDD8 pathway is required for proteasome-mediated degradation of human estrogen receptor (ER)-alpha and essential for the antiproliferative activity of ICI 182,780 in ERalpha-positive breast cancer cells. *Molecular Endocrinology* 2003;17:356-365 •
- 77.** Fuqua SA, Schiff R, Parra I, Friedrichs WE, Su JL, McKee DD, Slentz-Kesler K, Moore LB, Willson TM, Moore JT. Expression of wild-type estrogen receptor beta and variant isoforms in human breast cancer. *Cancer Res* 1999;59:5425-5428 •
- 78.** Speirs V, Kerin MJ. Prognostic significance of oestrogen receptor beta in breast cancer. *Br J Surg* 2000;87:405-409 •
- 79.** Witek A, Skalba P, Paul M, Graniczka M, Mazurek U, Chromy G, Wilczok T. Evaluation of wild-type estrogen receptor beta and its isoforms: ER-beta/delta 5/6 i ER-beta/delta 6 in endometrial adenocarcinoma. *Ginekol Pol.* 2003;74:897-902 •
- 80.** Morales-Vázquez. Estrategias clínicas y Desarrollo de las Bases Científicas en el Empleo de Hormonoterapia para Cáncer de Mama. *Cancerología* 2006; 1:163-175 •
- 81.** Fisher, B., Costantino, J. P., Wickerham, D. L., Redmond, C. K., Kavanah, M., Cronin, W. M., Vogel, V., Robidoux, A., Dimitrov, N., Atkins, J., Daly, M., Wieand, S., Tan-Chiu, E., Ford, L., and Wolmark, N. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J. Natl. Cancer Inst. (Bethesda)* 1998;90: 1371-1388 •
- 82.** Dorssers, L. C., Van der Flier, S., Brinkman, A., van Agthoven, T., Veldscholte, J., Berns, E. M., Klijn, J. G., Beex, L. V., and Foekens, J. A. Tamoxifen resistance in breast cancer: elucidating mechanisms. *Drugs*, 2001; 61: 1721-1733 •