

Received: 2011.05.16  
Accepted: 2011.07.26  
Published: 2011.08.19

## Transportery błonowe ABCC – budowa, funkcja i znaczenie w mechanizmach wytwarzania oporności wielolekowej w komórkach nowotworów złośliwych

Transmembrane transporters ABCC – structure, function and role in multidrug resistance of cancer cells

Sylwia Dębska<sup>1</sup>, Agata Owecka<sup>2</sup>, Urszula Czernek<sup>1</sup>,  
Katarzyna Szydłowska-Pazera<sup>1</sup>, Maja Habib<sup>1</sup>, Piotr Potemski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika Chemioterapii Nowotworów Katedry Onkologii UM w Łodzi, Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika w Łodzi

<sup>2</sup> Zakład Patomorfologii Wieku Rozwojowego UM w Łodzi, Uniwersytecki Szpital Kliniczny Nr 4 im. M. Konopnickiej w Łodzi

### Streszczenie

Oporność na leki cytotoksyczne jest obecnie poważnym problemem leczenia systemowego nowotworów. Jednym z mechanizmów oporności, oprócz inaktywacji leku w komórkach docelowych, zmiany punktu uchwytu dla leku, nasilenia procesów naprawy DNA i hamowania apoptozy, jest aktywny wyrzut leku z komórki nowotworowej. Za transport cytostatyków przez błonę komórkową odpowiadają m.in. białka transportowe z nadrodziny ABC (ATP-binding cassette). W pracy omówiono podrodzinę transporterów ABCC – białek warunkujących wielolekową oporność krzyżową komórek nowotworowych na cytostatyki. Opierając się na danych z piśmiennictwa, autorzy przedstawiają budowę białek ABCC, ich rolę fizjologiczną, zaburzenia chorobowe związane z mutacjami genów kodujących niektóre z tych białek, ich ekspresję w komórkach różnych nowotworów złośliwych i jej związek z opornością na stosowane cytostatyki oraz metody odwracania owej oporności.

**Słowa kluczowe:**

**białka oporności wielolekowej • glikoproteina P • białka wiążące ATP podrodzina C**

### Summary

Resistance to cytotoxic drugs is a significant problem of systemic treatment of cancers. Apart from drug inactivation, changes in target enzymes and proteins, increased DNA repair and suppression of apoptosis, an important mechanism of resistance is an active drug efflux from cancer cells. Drug efflux across the cell membrane is caused by transport proteins such as ABC proteins (ATP-binding cassette). This review focuses on the ABCC protein subfamily, whose members are responsible for multidrug cross-resistance of cancer cells to cytotoxic agents. The authors discuss the structure of ABCC proteins, their physiological function and diseases provoked by mutations of respective genes, their expression in many different malignancies and its connection with resistance to anticancer drugs, as well as methods of reversion of such resistance.

**Key words:**

**multidrug resistance-associated proteins • P-glycoprotein • ATP-binding cassette subfamily C**

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=956500>**Word count:** 3275**Tables:** 1**Figures:** 1**References:** 79**Adresautorki:** dr Sylwia Dębska, Klinika Chemioterapii Nowotworów Katedry Onkologii UM w Łodzi, Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika, ul. I. Paderewskiego 4, 93-509 Łódź, e-mail: sylwia.debska@o2.pl

**Wykaz skrótów:** **ABCB1/MDR1** – białko błonowe z kasetą wiążącą ATP z podrodziny B1/białko oporności wielolekowej 1 (ATP-binding cassette, subfamily B, member 1; multidrug resistance 1); **BCRP** – białko oporności lekowej w raku piersi (breast cancer resistance protein); **BSO** – butioninosulfoksymina; **CFTR/ABCC7** – regulator przewodnictwa przez błonowe w mukowiscydozie/białko błonowe z kasetą wiążącą ATP C7 (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator); **CL3** – pętla cytoplazmatyczna 3 (cytoplasmic loop); **CMOAT** – żółciowy transporter kanalikowy (canalicular multispecific organic anion transporter); **MRP** – białko spokrewnione z białkiem oporności wielolekowej (multidrug resistance related protein); **MSD** – domena przezbłonowa (membrane spanning domain); **MYCN** – czynnik transkrypcyjny; **NBD** – domena wiążąca nukleotydy (nucleotide binding domain); **NRF2** – czynnik jądrowy erytroidopodobny 2 (nuclear factor erythroid 2-like); **P-gp** – glikoproteina P; **PIN** – nowotworzenie w nabłonku gruczołu krokowego (prostatic intraepithelial neoplasia); **SUR1 i SUR2** – receptory sulfonilomocznika (sulfonilurea receptors).

## WSTĘP

Poważnym problemem współczesnego leczenia systemowego nowotworów jest zjawisko oporności na stosowane leki. Oporność pierwotna istnieje przed zastosowaniem chemioterapii i stwierdzana jest w trakcie leczenia, natomiast oporność wtórna powstaje w trakcie terapii i ujawnia się po przejściowej odpowiedzi na leczenie.

Oporność komórek nowotworowych na stosowane cytostatyki może się opierać na różnych mechanizmach, zależą one m.in. od zmian dotyczących [8,21,44,56]:

- Transportu leku między przestrzenią zewnątrzkomórkową a wnętrzem komórki oraz między organellami komórkowymi (oporność zależna od transportu).
- Aktywacji leku w komórkach nowotworowych (oporność zależna od metabolizmu).
- Aktywności enzymów/białek docelowych zależnej od zwiększenia ich ekspresji w komórkach nowotworowych lub zmniejszenia powinowactwa wobec leku (oporność zależna od punktu uchwytu).
- Procesów naprawy DNA.
- Zdolności komórek nowotworowych do hamowania mechanizmów apoptozy.

Istotą oporności zależnej od transportu leku jest zmniejszenie jego efektywnego wewnątrzkomórkowego stężenia z powodu ograniczonego przepływu leku do wnętrza komórki nowotworowej lub jego nasilonego wyrzutu na zewnątrz. Mechanizm ten może dotyczyć także transportu leku z cytoplazmy do jądra komórki lub innych kompartmentów/organeli wewnątrzkomórkowych.

Za wyrzut leku z komórki odpowiadają białka funkcjonujące jako transportery przezbłonowe. Pierwszym zidentyfikowanym transporterem była glikoproteina P (P-gp). To białko o masie 170 kDa związane ze zjawiskiem oporności

wielolekowej odkryli w 1976 r. Juliano i Ling. Kodujący je gen *ABCB1/MDR1* (ATP-binding cassette, subfamily B, member 1; multidrug resistance 1) znajduje się w długim ramieniu chromosomu 7 [8,15,44].

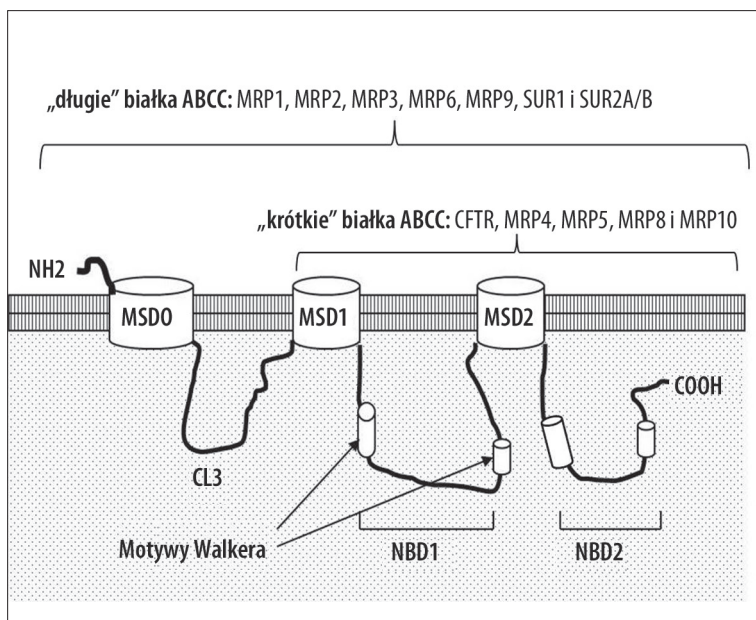
P-gp (ABCB1) należy do dużej nadrodziny białek transportowych ABC (ATP binding cassette transporters) przenoszących substancje endo- i egzogenne przez błonę komórkową z użyciem energii czerpanej z hydrolizy ATP. W organizmie człowieka zidentyfikowano około 50 genów kodujących białka ABC. Tworzą one siedem podrodzin [44], którym przypisano kolejne litery alfabetu od A do G. Większość białek ABC to transportery zależne od energii, ale nadrodzina zawiera także przykłady białek transportowych bramkowanych przez wiązanie i hydrolizę ATP, np. CFTR/ABCC7 (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) i zależne od ATP regulatory kanału potasowego np. receptory sulfonilomocznika SUR1/ABCC8 i SUR2/ABCC9 [2,8,25,37,44,74,77].

## HISTORIA I KLASYFIKACJA BIAŁEK MRP

Gałąz C jest jedną z największych w nadrodzinie ABC, u ludzi w jej skład wchodzi 13 białek. Ze względu na podobieństwo ich funkcji do P-gp dziesięć z nich nazwano MRP (multidrug resistance related proteins) [62,66].

W badaniach *in vitro* wykazano, że białka MRP odpowiadają za oporność na niektóre cytostatyki pochodzenia naturalnego (antracykliny, alkaloidy barwinka, epipodofilotoksyny) i ich sprzężone metabolity, także związki platyny, antagonistów kwasu foliowego, analogi nukleotydów i nukleozydów, arsenowe i antymonowe oksyaniony oraz leki alkilujące.

Oprócz prawdopodobnego udziału w wytwarzaniu oporności na cytostatyki, niektóre białka MRP, podobnie jak



Ryc. 1. Schemat budowy białek podrodziny ABCC. Większość białek ABC składa się z dwóch domen MSD (membrane spanning domain) i z dwóch domen NBD (nucleotide binding domain). Wyjątkiem są tzw. „półtransportery” np. BCRP/ABCG2 (breast cancer resistance protein; ATP-binding cassette, subfamily G, member 2) – zbudowane z jednej domeny MSD i jednej domeny NBD, a funkcjonujące jako homodimery lub homotetramery. „Krótkie” białka ABCC mają typową strukturę: dwie domeny MSD1 i 2, z których każda zawiera sześć białkowych helis przezbłonowych i dwie domeny NBD1 i 2. Natomiast „długie” białka ABCC mają dodatkowy NH2-końcowy region składający się z około dwustu aminokwasów. Ten NH2-końcowy fragment jest względnie mało konserwatywny, zawsze jednak jest hydrofobowy i zawiera 4–6 helis przezbłonowych tworzących domenę MSD0. Symulacje komputerowe wskazują, że koniec NH2 „długich” białek MRP znajduje się na zewnątrz komórki

P-gp/MDR1 i ABCG2/BCRP (breast cancer resistance protein), są odpowiedzialne za dystrybucję i eliminację wielu innych leków i metabolitów. Dzięki swej obecności w licznych tkankach i barierach krew/tkanka mogą chronić strategiczne kompartmenty przed toksycznym działaniem ksenobiotyków i produktów przemiany materii. P-gp w warunkach fizjologicznych pełni istotną funkcję m.in. w utrzymaniu czynnościowej bariery krew–mózg [8,15,61,74].

W trakcie badań, które doprowadziły do odkrycia P-gp, linie komórkowe wywodzące się z guzów nowotworowych poddawano działaniu subletalnych stężeń pojedynczych cytostatyków: doksorubicyny, winkrystyny czy winblastyny. Dzięki temu uzyskano linie komórek wykazujących krzyżową oporność wobec czynników przeciwnowotworowych pochodzenia naturalnego charakteryzujących się odmiennym mechanizmem działania: antracyklin, alkaloidów barwinka, epipodofilotoksyn i taksoidów [8,18].

Pierwsze białko z rodziny MRP zidentyfikowano w 1992 r. w linii komórkowej ludzkiego drobnokomórkowego raka płuca H69AR wyselekcjonowanej w obecności doksorubicyny. Chociaż komórki były poddane ekspozycji na jeden lek, wykazywały krzyżową oporność na wiele leków cytotoksycznych pochodzenia naturalnego o różnej strukturze i różnym mechanizmie działania. Gen odpowiedzialny za uzyskaną lekooporność był położony w chromosomie 16p13.1 i ulegał stukrotnej amplifikacji w komórkach H69AR. Odpowiadające mu białko MRP1 wykazywało podobieństwo budowy do P-gp/MDR1 i uznano je za prawdopodobną przyczynę wielolekowej oporności komórek H69AR [8,15,47]. Obecnie, używaną nazwą genu *MRP1* jest *ABCC1* (ATP-binding cassette, subfamily C, member 1).

Drugie białko z rodziny MRP – MRP2, odkryto 4 lata później. Okazało się tożsame ze znanym już wcześniej żółciowym transporterem kanalikowym (canicular multispecific organic anion transporter – CMOAT). Mutacja genu *MRP2/ABCC2* jest przyczyną dziedzicznej postaci hiperbilirubinemii znanej jako zespół Dubina-Johnsona [25,30,74].

Pod względem strukturalnym MRP1 jest najbardziej zbliżone do MRP3/ABCC3 – białka wykazują 60% zgodności. Sekwencję genu kodującego MRP3 opisano częściowo w 1997 r. razem z *MRP4/ABCC4* i *MRP5/ABCC5*. W warunkach fizjologicznych MRP3 ma znaczenie w transporcie kwasów żółciowych i jest niekiedy określane jako CMOAT2 [70].

Odkrycie kolejnych białek/genów rodziny ABCC było ułatwione dzięki sekwencjonowaniu chromosomu 16, które ujawniło gen spokrewniony z *MRP1* – *MRP6*. Położenie w bliskim sąsiedztwie, orientacja genów w przeciwnym kierunku oraz duże podobieństwo sekwencji nasuwa przypuszczenie, że powstały one dzięki genowej duplikacji. Jedno z najbardziej zadziwiających odkryć dotyczących genu *MRP6/ABCC6* to związek jego mutacji z rzadko występującą chorobą tkanki łącznej – *pseudoxanthoma elasticum*. U chorych z takim defektem dochodzi do zwężenia włókien elastycznych i tworzenia patologicznych włókien kolagenowych w tkance łącznej skóry, siatkówki, tętnic. Jedna z hipotez mówi, że zmutowane białko MRP6 nie może efektywnie usuwać z komórek toksyny odpowiedzialnej za degenerację tkanki łącznej [34, 42].

Duże stężenia transkryptu genu *MRP9/ABCC12* wykryto w kanalikach nasiennych oraz w komórkach raka piersi. W tychże komórkach metodą western blottingu zidentyfikowano białko o masie 100 kDa kodowane przez *MRP9* [3].

W ciągu ostatnich kilku lat odkryto kolejne geny podrodziny *MRP/ABCC*. Geny *MRP1-9/ABCC1-6, 10-12* kodują funkcjonalne transportery zależne od ATP przenoszące substancje endogenne i ksenobiotyki oraz ich koniugaty. Oprócz dziesięciu białek MRP, gałąź C nadrodziny ABC zawiera białko CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) oraz receptory sulfonilomocznika SUR1 i SUR2 A/B. Z tego względu białka (wraz z odpowiadającymi im genami) MRP1-6 i MRP7-10 klasyfikowane są jako ABCC1-6 i ABCC10-13, natomiast CFTR,

SUR1 i SUR2A/B, odpowiednio jako ABCC7, ABCC8 oraz ABCC9 [15].

### BUDOWA BIAŁEK MRP

Budowa wszystkich białek ABC jest podobna – zawierają one dwa typy domen: hydrofobowe rozciągające się w błonie komórkowej (membrane spanning domain, MSD) i hydrofilowe wewnątrzkomórkowe wiążące nukleotydy (nucleotide binding domain, NBD) [8,15,41]. Schemat budowy białek podrodziny ABCC przedstawia ryc. 1.

Domeny MSD1 i 2 odpowiadają za swoiste wiązanie i przenoszenie substratu, natomiast domeny NBD wiążą i hydrolizują ATP, dostarczając energię potrzebną do transportu. Za wiązanie nukleotydów odpowiedzialne są fragmenty NBD zwane motywami Walkera [11].

Uwzględniając obecność domeny MSD0, w podrodziny można wyróżnić „krótkie” i „długie” białka ABCC. „Długie” 5-domenowe białka MRP są blisko spokrewnione z MRP1 (44–56% podobieństwa budowy aminokwasowej). Natomiast „krótkie” MRP są najbardziej zbliżone budową do CFTR.

„Krótkie” i „długie” białka ABCC łączy wysoce konserwatywna budowa domen NBD, które (a szczególnie NBD1) stanowią element charakterystyczny całej rodziny ABC [34].

W badaniach nad rolą domeny MSD0 wykazano, że utrata jej części lub całości powoduje utratę zdolności transportowania leukotrienu C4 – naturalnego substratu MRP1 o wysokim powinowactwie. Najprawdopodobniej utrata funkcji spowodowana jest utratą fragmentu łączącego CL3 (cytoplasmic loop), a nie całej domeny MSD0. Utrata pętli łączącej CL3 prawdopodobnie powoduje retencję białka w siateczce endoplazmatycznej komórek ssaków. Najważniejszy fragment CL3 zawiera amfipatyczne helisy alfa, które mają odpowiedniki w strukturze wszystkich białkach ABCC, nawet w tych niezawierających domeny MSD0. W białku CFTR zidentyfikowano w tym regionie 19 mutacji związanych z różnymi chorobami. MSD0 prawdopodobnie wchodzi w interakcję z rdzeniem białka w siateczce endoplazmatycznej i reguluje jego przeniesienie do błony komórkowej [6,15,30].

Wskazuje się, że geny „długich” białek MRP nabyły pierwszych 5 eksonów dzięki fuzji genowej, a zważywszy, że odpowiedniki *MRP1/ABCC1* istnieją u niższych organizmów, zjawisko to musiało nastąpić we wczesnych etapach ewolucji [15]. W związku z tym, że białka ABC obserwuje się u licznych gatunków ssaków oraz u wielu mniej rozwiniętych organizmów, a jako transportery ksenobiotyków warunkują oporność na leki pochodzenia naturalnego, przypuszcza się, że powstały one w wyniku ewolucji jako mechanizm obronny przed toksycznym działaniem substancji zawartych w pokarmie i w środowisku [20,29,31].

### FIZJOLOGICZNA ROLA BIAŁEK MRP I ICH EKSPRESJA W NOWOTWORACH ZŁOŚLIWYCH

Białka MRP są szeroko rozpowszechnione w organizmie człowieka. Ich tkankowe umiejscowienie przedstawiono w tab. 1 [8,15,31,41,44]. Duża ekspresja białek MRP

w tkankach odpowiedzialnych za eliminację toksycznych metabolitów i ochronę strategicznych kompartmentów organizmu ludzkiego związana jest z ich funkcją.

Białko MRP1 jest transporterem cytotatyków pochodzenia naturalnego (antracyklin, epipodofilotoksyn, alkaloidów barwinka) oraz związków metali ciężkich. Jego pierwszym naturalnym substratem odkrytym w badaniach *in vitro* był leukotrien C4. MRP1 transportuje niektóre substraty w postaci skoniugowanej (glukuronian etopozyny, glutationowe koniugaty doksorubicyny), inne w postaci niezmodyfikowanej, ale ich transport stymulowany jest działaniem glutationu (winkrystyna, doksorubicyna) [1,15,32,38].

MRP2/CMOAT (transporter zidentyfikowany w błonie hepatocytów i komórek tucznych) odpowiada za przenoszenie różnorodnych anionów organicznych, wolnego glutationu, kompleksów glutationu i metali ciężkich. Także w przypadku MRP2 glutation stymuluje przenoszenie niektórych niezmodyfikowanych substancji [38,58].

Substraty MRP1 i MRP2 w dużej mierze są takie same, obejmując koniugaty glutationowe i siarczanowe, glukuroniany, skoniugowane leukotrieny, steroidy i sole żółciowe. Oba białka są odpowiedzialne za eliminację z komórki względnie hydrofilowych produktów reakcji koniugacji (fazy II) hydrofobowych ksenobiotyków np. aflatoksyny B1 – znanego karcynogenu.

Obecność MRP1 w komórkach bariery krew–mózg oraz w splocie naczyńkowym chroni mózg przed szkodliwymi substratami, w syncytiotrofoblastie łożyska – przed działaniem ksenobiotyków i akumulacją szkodliwych endobiotyków (np. glukuronianu 17-beta-estradolu), w jądrach – przed feminizacją powodowaną przez siarczan estronu, w pneumocytach typu 2 – przed wdychanymi toksynami, a w hepatocytach – przed toksycznymi składnikami żółci [32,53].

Zdolność MRP1 do transportu glutationu zredukowanego i utlenionego sugeruje rolę tego białka w kontroli stanu redox komórki. Ekspresja MRP1 zwiększa się w stresie oksydacyjnym, a jego transkrypcję promuje czynnik NRF2 (nuclear factor erythroid 2-like). MRP1 transportuje toksyczne produkty oksydacji lipidów powstające w stresie oksydacyjnym [65].

MRP1 jest, jak dotychczas, najlepiej zbadanym białkiem z rodziny ABCC pod względem obecności w komórkach nowotworowych. Ekspresję białka MRP1 wykryto w komórkach guzów litych: płuca, piersi, prostaty. Rola prognostyczna białka MRP1 w raku płuca jest przedmiotem znacznych kontrowersji. Według niektórych autorów nadekspresja MRP1 jest obecna prawie w 75% raków niedrobnokomórkowych i ma związek z krótszym czasem przeżycia całkowitego [15,16]. W drobnokomórkowym raku płuca MRP1 rzadziej ulega ekspresji, która – jeśli występuje – jest różnie nasilona w komórkach poszczególnych obszarów guza i wiąże się z gorszą odpowiedzią na leczenie cytotatykami [15,17,47,69]. Ekspresja MRP1 jest także przez niektórych uznawana za niekorzystny czynnik prognostyczny w miejscowo zaawansowanym raku piersi wpływający na skrócenie czasu przeżycia wolnego od nawrotu

Tabela 1. Ekspresja tkankowa i umiejscowienie w błonie komórkowej białek MRP/ABCC

Nazwa białka	Ekspresja tkankowa	Umiejscowienie w błonie komórkowej
MRP1/ABCC1	płuca (nabłonek oskrzeli, pneumocyty typu 2), jądra (komórki Leydiga i Sertoliego), jelito (proliferujące komórki Peanetha w okrężnicy), nerki, mięśnie szkieletowe, miokardium, łożysko (syncytiotrofoblast łożyskowy, nabłonkowe komórki wewnątrzłożyskowego woreczka żółtkowego), komórki tuczne, eozynofile, komórki pomocnicze T, erytrocyty, bariera krew–mózg, spłot naczyńkowy – bariera krew–płyn mózgowo-rdzeniowy, wątroba – bardzo słaba ekspresja, proliferujące hepatocyty i nowotwory wątrobowokomórkowe np. linia komórkowa HepG2 – ekspresja bardzo duża	część podstawno-boczna spolaryzowanych komórek. W syncytiotrofoblaście łożyskowym i w endotelium kapilar mózgu MRP1 obecne jest w błonie szczytowej. MRP1 znajduje się zarówno w błonie komórkowej jak i w organellach wewnątrzkomórkowych
MRP2/ABCC2	wątroba (błona kanalikowa hepatocytów), nerki (szczytowa błona proksymalnych kanalików nerkowych), jelito cienkie (największa ekspresja w kosmkach proksymalnej części jelita czczego), okrężnica, pęcherzyk żółciowy, łożysko i płuca	jedynie białko MRP znajdujące tylko w błonie szczytowej. To umiejscowienie wymaga prawdopodobnie obecności domeny MSDO, ale doświadczalne połączenie MSDO białka MRP2 z częścią białka MRP1 nie zmienia podstawno-bocznej lokalizacji MRP1
MRP3/ABCC3	nadnercza, trzustka, jelito (enterocyty jelita krętego i okrężnicy), pęcherzyk żółciowy, łożysko, w mniejszym stopniu – nerki (w kanalikach dystalnych), wątroba (hepatocyty i cholangiocyty), stercz. Poziom ekspresji MRP3 zwiększa się w każdych warunkach prowadzących do cholestazy towarzyszącej zmniejszeniu ekspresji MRP2 w błonie kanalikowej	podstawno-boczna błona hepatocytów i komórek nabłonka jelitowego
MRP4/ABCC4	mRNA genu występuje w małym i średnim stężeniu w jajnikach, jądrach, nadnerczach, płucach, jelicie i w nieco większym stężeniu w prostatie. Ekspresja MRP4 w zdrowej wątrobie jest bardzo mała	MRP4 znajduje się raczej w szczytowej niż w podstawnej błonie komórkowej, np. w proksymalnych kanalikach nerkowych, endotelium kapilar mózgowych, ale w lokalizacji podstawno-bocznej występuje w komórkach kanalikowo-zrazikowych prostaty, splocie naczyńkowym oraz komórkach linii raka HepG2
MRP5/ABCC5	mięśnie szkieletowe, miokardium, miocyty kardiowaskularne. W mózgu MRP5 lokalizuje się wraz z MRP1 i 4 po szczytowej stronie komórki endotelium, jest także obecne w astrocytach i neuronach piramidowych	pomimo szczytowej lokalizacji w endotelium mikrokapilar białko można także znaleźć w podstawno-bocznej błonie spolaryzowanych komórek nabłonka
MRP6/ABCC6	wątroba, proksymalne kanalik nerkowe, fibroblasty tkanki łącznej w <i>pseudoxanthoma elasticum</i> – w bardzo małym stopniu	błona podstawno-boczna hepatocytów i nabłonka proksymalnych kanalików nerkowych
MRP7/ABCC10	transkrypty genu wykryto metodą RT-PCR w licznych tkankach, ale poziomy ekspresji są relatywnie niskie	tkankowa i subkomórkowa dystrybucja białek MRP7-10 nie jest znana
MRP8/ABCC11	mRNA jest szeroko rozpowszechnione, z wyjątkiem nerek, śledziony i okrężnicy	
MRP9/ABCC12	transkrypty genu wykryto w jądrach, gruczołach piersiowych oraz komórkach raka piersi	
MRP10	względnie wysokie poziomy ekspresji genu wykryto w okrężnicy, szpiku, śliniankach, płodowej wątrobie	

i czasu przeżycia całkowitego [1,15]. Wskazuje się także na większą ekspresję MRP1 w nawrotowych rakach piersi po leczeniu neoadiuwantowym oraz w guzach przerzutowych, ale nie ma ona znaczenia predykcyjnego dla leczenia systemowego [1,10]. MRP1 ulega średnio nasilonej ekspresji w zdrowym nabłonku prostaty, ale znacznie większej w zmianach typu PIN (prostatic intraepithelial neoplasia) i gruczolakoraku. Istnieją

doniesienia o wzroście ekspresji MRP1 w miarę wzrostu zaawansowania raka prostaty oraz o związku tej ekspresji z mutacjami *TP53* [59,64]. Zaobserwowano także, że flutamid – antyandrogen stosowany w leczeniu raka gruczołu krokowego oraz jego metabolit hydroksyflutamid są wyrzucane z komórek wykazujących nadekspresję MRP1, co sugeruje udział tego białka w powstawaniu hormonoopornego raka prostaty [19,28,75].

MRP1 jest także jednym z niekorzystnych czynników prognostycznych w nerwiaku płodowym (neuroblastoma). Amplifikacja genu *MYCN* koreluje z nadekspresją *MRP1*, dla którego *MYCN* jest promotorem transkrypcji [45,48].

*MRP1* ulega ekspresji we wszystkich prawidłowych komórkach linii krwiotwórczych. Wskazuje się na związek pomiędzy ekspresją *MRP1* a zaawansowaniem i rokowaniem w ostrej białaczce szpikowej oraz w przewlekłej białaczce limfatycznej. Trudności w interpretacji wyników badań dotyczących białek transportowych w komórkach białaczkowych wynikają z koekspresji tych białek w badanych komórkach [15]. Niemniej Plasschaert i wsp. w badaniu, które przeprowadzili w grupie ponad stu chorych (dorosłych i dzieci) na ostrą białaczkę limfoblastyczną, wykazali związek ekspresji *MRP1*, *MRP2*, *MRP3*, *MRP5* i *MRP6* w komórkach nowotworowych ze skróceniem czasu przeżycia wolnego od nawrotu [52].

Ekspresję *MRP2* o różnym nasileniu i z różną częstością wykryto w komórkach raka nerki, żołądka, piersi, płuca, okrężnicy i jajnika [16], a w koekspresji z *MRP1* – w glejakach [15].

*MRP3* charakteryzuje się powinowactwem do glukuronianów, glutationu i soli żółciowych, stąd jego rola w ochronie wątroby przed akumulacją toksycznych związków i zaangażowanie w krążenie jelitowo-wątrobowe soli żółciowych. Sugeruje się, że ekspresja *MRP3* może być skoordynowana z indukcją enzymów fazy I przez ksenobiotyki. Zwiększoną ekspresję białka zaobserwowano u chorych z zespołem Dubina-Johnsona, co zapewne jest mechanizmem kompensacyjnym przy niedoborze *MRP2* i narastającej cholestazie [26,60].

Występowanie *MRP2* i *MRP3* opisano w raku wątrobowokomórkowym [7]. Zwiększenie ekspresji *MRP1*, *MRP2* i *MRP3* po zastosowanej chemioterapii zaobserwowano w raku pęcherza moczowego. Duże stężenie białka *MRP3* obserwuje się w raku trzustki i w ostrych białaczkach u dzieci źle odpowiadających na chemioterapię [15]. Opisano także ekspresję *MRP3* w komórkach glejaka wielopostaciowego oraz związek dużego stężenia transkryptu jego genu w komórkach guza ze skróceniem przeżycia całkowitego chorych [27].

*MRP4* i *MRP5* wyróżniają się spośród innych białek ABCC dużą zdolnością do transportowania cyklicznych nukleotydów. Nasuwa to przypuszczenia co do ich istotnej roli w regulacji wewnątrz- i zewnątrzkomórkowego stężenia cAMP i cGMP [71,76].

*MRP4*, białko obecne w nerkowych kanalikach proksymalnych, odpowiada za wydalanie cyklicznych nukleotydów, niektórych anionów organicznych, paraaminohipuronianu, bilirubiny podczas cholestazy, prawdopodobnie także współtransportuje zredukowany glutation wraz z solami żółciowymi i jako jedyny przedstawiciel MRP ma zdolność przenoszenia prostaglandyny E1 i E2 [54]. Nadekspresja *MRP4*, często skorelowana z amplifikacją onkogenu *MYCN*, to negatywny czynnik prognostyczny w nerwiaku płodowym [45]. Obecność *MRP5* stwierdza się w raku trzustki [4,15,48] i w glejakach – podobnie jak *MRP4* [9].

*MRP6* transportuje liczne aniony organiczne skoniugowane z glutationem, epipodofilotoksyny, antracykliny. Jego funkcję hamują nieswoiste aniony, np. probenecyd, indometacyna. W patologii *pseudoxanthoma elasticum* defekt *MRP6* często dotyczy domeny NBD2 i powoduje utratę zdolności do transportu substratów. W moczu chorych na *pseudoxanthoma elasticum* obserwuje się duże stężenie siarczanów glikozaminoglikanów [15,34].

*MRP8* przenosi cykliczne nukleotydy, koniugaty siarczano-we, glutationu, glukuronidów i prawdopodobnie bierze udział w homeostazie kwasów żółciowych. *MRP8* oraz nieprawidłowe mRNA *MRP9* wykryto w komórkach raka piersi [4,5,15,68].

## SUBSTRATY BIAŁEK MRP

Na podstawie licznych badań określono udział poszczególnych białek MRP w oporności na cytostatyki i niektóre leki przeciwwirusowe [8,15,22,27,44,45,55, 68,71]. Przedstawia się on następująco:

- *MRP1*: antracykliny, alkaloidy barwinka, epipodofilotoksyny, taksoidy (w niewielkim stopniu), irynotekan i jego aktywny metabolit SN-38, FK-228 (depsipeptyd), immunokoniugaty; transport kilku substancji pochodzenia naturalnego jest stymulowany przez glutation.
- *MRP2*: antracykliny, alkaloidy barwinka, epipodofilotoksyny, taksoidy, irynotekan, SN-38, pochodne platyny (w niewielkim stopniu), inhibitory proteazy HIV.
- *MRP3*: epipodofilotoksyny, metotreksat.
- *MRP4*: *in vitro* – lamiwudyna, gancyklowir, zydowudyna, adefowir, tioguanina, 6-merkaptopuryna, irynotekan, SN-38.
- *MRP5*: tioguanina, 6-merkaptopuryna, fluorouracyl, metotreksat, gemcytabina.
- *MRP6*: tenipozyd, etopozyd (w średnim stopniu), antracykliny, cisplatyna (w małym stopniu).
- *MRP7*: taksoidy, alkaloidy barwinka (w małym stopniu).
- *MRP8*: adefowir, fluorouracyl i inne fluoropirymidyny, metotreksat, pemetreksed.

„Krótkie” MRP w większym stopniu warunkują oporność na analogi nukleotydów i nukleozydów. Wszystkie MRP mogą transportować antymetabolity i inhibitory topoisomazy I np. irynotekan, ale *MRP1*, *MRP2*, *MRP3*, *MRP4* i *MRP8* powodują oporność już po krótkiej ekspozycji na irynotekan i transportują lek w jego niezmienionej postaci.

## Substancje odwracające oporność na leki warunkowaną przez białka MRP i ich znaczenie kliniczne

Jednocześnie z badaniem cytostatyków, wobec których białka MRP warunkują oporność, identyfikowano substancje oporność ową odwracające. Nazywane są one modulatorami albo inhibitorami MRP. Są to substraty białek ABC, które konkurują z chemioterapeutykami o miejsca wiązania z transporterem przez co kompetetywnie hamują ich transport. Po uwzględnieniu mechanizmu ich działania i ewentualnych interakcji z cytostatykami dzieli się je na trzy generacje:

I generacja – związki te skutecznie hamują wyrzut cytostatyków z komórek *in vitro*, ale *in vivo* odwrócenie oporności wymaga ich dużego stężenia w surowicy, stąd duże prawdopodobieństwo działań niepożądanych.

II generacja – związki charakteryzują się lepszym profilem farmakologicznym, odwracają oporność *in vitro* i *in vivo*, ale istotnie hamują enzym CYP3A4, co zmniejsza metabolizm licznych leków przeciwnowotworowych i prowadzi do zwiększenia ich toksyczności i stwarza konieczność zmniejszenia dawki.

III generacja – związki potencjalnie odwracają oporność *in vitro* i *in vivo*, a jednocześnie nie wpływają istotnie na aktywność CYP3A4 przez co nie zmieniają profilu farmakokinetycznego cytostatyków [12].

Zauważono także, że niektóre substancje pochodzenia roślinnego wpływają na ekspresję genów dla transporterów ABC. Przykładem są pochodne kurkuminy, które hamują ekspresję genu *P-gp* w hodowlach komórek nowotworowych [35]. Nie mniej ciekawe są obserwacje dotyczące odwracania oporności warunkowanej przez białko ABCG2. Jest to możliwe dzięki związkom, które po przyłączeniu do transportera hamują jego aktywność – zjawisko nazywane jest wtedy hamowaniem biernym. Inne substancje po przyłączeniu do ABCG2 indukują jego internalizację i degradację w lizosomach, co nazywane jest hamowaniem aktywnym. Istnieją hipotezy, że te dwa mechanizmy zależą od miejsca wiązania cząsteczki do transportera, które może powodować tylko dezaktywującą zmianę konformacji albo umożliwiać endocytozę [49].

Do substancji odwracających oporność wielolekową należą:

- MK571 (antagonista receptora leukotrienu D4) – hamuje aktywność transportową MRP1, MRP2, MRP4 [15,73].
- Glibenklamid (pochodna sulfonilomocznika) – SUR1/ABCC8, MRP1, ABCA1 [65].
- Probenecyd – hamuje transport anionów organicznych [2,15].
- Flawonoidy naturalne (genisteina, kwercetyna) i syntetyczne (flawopirydol) – MRP1 i MRP2 [8,15,23].
- Pochodne chinoliny, np. MS209, pochodna kwasu piperolinowego VX710, dofequidar – P-gp, MRP1, BCRP/ABCG2 [8,15,19,24].
- Tetrahydrokurkumina – P-gp, MRP1, BCRP/ABCG2 [17,36].
- Cyklosporyna A i jej analog PSC833 – P-gp/MDR1/ABCB1 [8,15,40].
- Indometacyna – MRP1, MRP4, MRP6 [54,73].
- Pochodne kwasu wanadowego – MRP1 [73].
- Sulindak – MRP1 [46].
- Werapamil – MRP1 [8,75].
- Trifluoperazyne – MRP1 [8].
- Dihydropirydyny (nikardypina, niguldypina, nitrendypina) – P-gp, BCRP/ABCG2 [78].
- Rimonabant i inni antagoniści receptora kannabinoidowego CB1 – MRP1, MRP4 [72].

Ze względu na kotransport glutationu z niektórymi substratami MRP1, podejmowano próby zahamowania tego zjawiska przez blokowanie syntezy zredukowanego glutationu np. z użyciem BSO (butioninosulfoksyminy) – inhibitora syntezy gamma-glutamylcysteinowej, S-transferazy glutationowej i proteazoopornych pochodnych zredukowanego glutationu [15,19].

Początkowo inhibitory transporterów przezbłonowych zidentyfikowano wśród leków stosowanych do innych celów.

Są to związki o różnej budowie i funkcji, np. werapamil, cyklosporyna. Jednak stosowane w dużych stężeniach jako inhibitory ABC miały poważne działania niepożądane (generacja I). Nowe związki charakteryzują się większym powinowactwem wobec białek ABC i zaprojektowano je tak, by uniknąć ich działania niepożądanego przy efektywnych stężeniach, np. (R)-werapamil, deksniguldypina [77,78].

Deksniguldypina jest enancjomerem blokera kanału wapniowego – niguldypiny. Charakteryzuje się zmniejszonym powinowactwem do tego kanału, wywołuje minimalny wpływ na ciśnienie tętnicze krwi, ale równie skutecznie hamuje funkcje transportowe P-gp. Jej działanie odwracające oporność na cytostatyki udowodniono w doświadczeniach na liniach komórkowych i w pewnym stopniu także w badaniach klinicznych na grupach dorosłych z ostrą białaczką szpikową. Nie uniknięto u nich jednak powikłań sercowo-naczyniowych [8]. Obecnie kładzie się nacisk także na własną aktywność przeciwnowotworową deksniguldypiny. Przypisuje się jej działanie antagonistyczne wobec kalmoduliny i hamowanie białkowej kinazy C oraz hamowanie topoizomazy I [63]. W badaniach na liniach komórek drobnokomórkowego raka płuca H69AR i gruczolakoraka trzustki PANC-1 wykazano skuteczność pochodnych niguldypiny w odwracaniu oporności na winblastynę i daunomycynę [78].

Skuteczność (R)-werapamilu w odwracaniu oporności warunkowanej przez P-gp obserwowano wśród chorych z chłoniakami nieziarniczymi i ziarnicą złośliwą [8]. Ocenie klinicznej poddano skuteczność (R)-werapamilu w połączeniu z paklitaksem u pacjentek z rozsianym rakiem piersi. Jakkolwiek udało się osiągnąć w surowicy krwi chorych stężenie (R)-werapamilu oceniane w badaniach *in vitro* jako skuteczne w odwracaniu oporności na cytostatyki, to leczenie wiązało się ze zwiększeniem toksyczności neurologicznej i hematologicznej chemioterapii [5,67]. Badania przedkliniczne wykazały, że podczas gdy (R)-werapamil hamuje transport winkrystyny zależny od MRP1, enancjomer (S)-werapamil może indukować śmierć komórek transfekowanych MRP1 przez zmniejszenie wewnątrzkomórkowego stężenia glutationu [51].

Ostatnio prowadzone są prace nad nowymi substancjami o bardzo dużym powinowactwie wobec białek MRP i skuteczności już w stężeniach nanomolowych, niektóre z nich, np. MS209 stosowane są obecnie w ramach badań klinicznych [15,50,66,77,78].

Zwrócono także uwagę na leki ukierunkowane na cel molekularny, jakimi są drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz, które mają już praktyczne zastosowanie w farmakoterapii nowotworów i cieszą się coraz większym zainteresowaniem. Związki te hamują aktywność enzymatyczną kinaz poprzez przyłączanie się do miejsc wiążących ATP. W podobnym mechanizmie mogą one blokować transportery błonowe. W doświadczeniach na liniach komórkowych wykazano, że sunitynib, lapatynib czy apatynib mogą skutecznie hamować transport warunkowany przez MRP1, P-gp czy BCRP. Jednak badania te w aspekcie odwracania oporności wielolekowej nie wyszły poza fazę przedkliniczną [13,14,43].

Niestety, jak dotąd białka MRP nie stały się celem skutecznej terapii, która miałaby zastosowanie w praktyce klinicznej.

## PODSUMOWANIE

Oporność komórek nowotworowych pierwotna lub wtórna jest przyczyną niepowodzeń farmakoterapii u chorych na nowotwory złośliwe. Jeden z odpowiedzialnych za to mechanizmów zależy od białkowych transporterów błonowych aktywnie „wyrzucających” lek z komórki. Badanie udziału tych białek w oporności wielolekowej komórek nowotworowych oraz poszukiwanie leków odwracających to zjawisko może się przyczynić do poprawy skuteczności leczenia obecnie dostępnymi cytostatykami. Warto jednak

pamiętać, że efekt farmakologiczny substancji odwracających oporność warunkowaną przez transportery ABC nie powinien być rozpatrywany w oderwaniu od podawanych jednocześnie cytostatyków. Inhibitory kanałów transportowych mogą także wykazywać własne działanie cytotoksyczne. Wpływają ponadto na farmakokinetykę cytostatyków i mogą zmieniać ich metabolizm poprzez oddziaływanie na cytochrom P450. Nie można zapominać o fizjologicznej roli białek ABC, która może być zaburzona przez ich inhibitory. Wszystko to czyni niniejsze zagadnienie bardziej złożonym i wymagającym dalszych badań.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Atalay C., Demirkazık A., Gunduz U.: Role of ABCB1 and ABCC1 gene induction on survival in locally advanced breast cancer. *J. Chemother.*, 2008; 20: 734–739
- [2] Barrand M.A., Bagrij T., Neo S.Y.: Multidrug resistance-associated protein: a protein distinct from P-glycoprotein involved in cytotoxic drug expulsion. *Gen. Pharmacol.*, 1997; 28: 639–645
- [3] Bera T.K., Iavarone C., Kumar V., Lee S., Lee B., Pastan I.: MRP9, an unusual truncated member of the ABC transporter superfamily, is highly expressed in breast cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 6997–7002
- [4] Bera T.K., Lee S., Salvatore G., Lee B., Pastan I.: *MRP8*, a new member of ABC transporter superfamily, identified by EST database mining and gene prediction program, is highly expressed in breast cancer. *Mol. Med.*, 2001; 7: 509–516
- [5] Berg S.L., Tolcher A., O’Shaughnessy J.A., Denicoff A.M., Noone M., Ognibene F.P., Cowan K.H., Balis F.M.: Effect of R-verapamil on the pharmacokinetics of paclitaxel in women with breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 1995; 13: 2039–2042
- [6] Bomparde S.G., Hwang T.C.: Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: a chloride channel gated by ATP binding and hydrolysis. *Sheng. Li. Xue. Bao*, 2007; 59: 431–442
- [7] Bonin S., Pascolo L., Crocé L.S., Stanta G., Tiribelli C.: Gene expression of ABC proteins in hepatocellular carcinoma, perineoplastic tissue, and liver diseases. *Mol. Med.*, 2002; 8: 318–325
- [8] Bradshaw D.M., Arceci R.J.: Clinical relevance of transmembrane drug efflux as a mechanism of multidrug resistance. *J. Clin. Oncol.*, 1998; 16: 3674–3690
- [9] Bronger H., König J., Kopplow K., Steiner H.H., Ahmadi R., Herold-Mende C., Keppler D., Nies A.T.: ABC drug efflux pumps and organic anion uptake transporters in human gliomas and the blood-tumor barrier. *Cancer Res.*, 2005; 65: 11419–11428
- [10] Burger H., Foekens J.A., Look M.P., Meijer-van Gelder M.E., Klijn J.G., Wiemer E.A., Stoter G., Nooter K.: RNA expression of breast cancer resistance protein, lung resistance-related protein, multidrug resistance-associated proteins 1 and 2, and multidrug resistance gene 1 in breast cancer: correlation with chemotherapeutic response. *Clin. Cancer Res.*, 2003; 9: 827–836
- [11] Conrad S., Kauffmann H.M., Ito K., Leslie E.M., Deeley R.G., Schrenk D., Cole S.P.: A naturally occurring mutation in MRP1 results in a selective decrease in organic anion transport and in increased doxorubicin resistance. *Pharmacogenetics*, 2002; 12: 321–330
- [12] Dai C.L., Liang Y.J., Chen L.M., Zhang X., Deng W.J., Su X.D., Shi Z., Wu C.P., Ashby C.R. Jr., Akiyama S., Ambudkar S.V., Chen Z.S., Fu L.W.: Sensitization of ABCB1 overexpressing cells to chemotherapeutic agents by FG020326 via binding to ABCB1 and inhibiting its function. *Biochem. Pharmacol.*, 2009; 78: 355–364
- [13] Dai C.L., Liang Y.J., Wang Y.S., Tiwari A.K., Yan Y.Y., Wang F., Chen Z.S., Tong X.Z., Fu L.W.: Sensitization of ABCG2-overexpressing cells to conventional chemotherapeutic agent by sunitinib was associated with inhibiting the function of ABCG2. *Cancer Lett.*, 2009; 279: 74–83
- [14] Dai C.L., Tiwari A.K., Wu C.P., Su X.D., Wang S.R., Liu D.G., Ashby C.R. Jr., Huang Y., Robey R.W., Liang Y.J., Chen L.M., Shi C.J., Ambudkar S.V., Chen Z.S., Fu L.W.: Lapatinib (Tykerb, GW572016) reverses multidrug resistance in cancer cells by inhibiting the activity of ATP-binding cassette subfamily B member 1 and G member 2. *Cancer Res.*, 2008; 68: 7905–7914
- [15] Deeley R.G., Westlake C., Cole S.P.: Transmembrane transport of endo- and xenobiotics by mammalian ATP-binding cassette multidrug resistance proteins. *Physiol. Rev.*, 2006; 86: 849–899
- [16] Filipits M., Haddad V., Schmid K., Huynh A., Dunant A., André F., Brambilla E., Stahel R., Pignon J.P., Soria J.C., Popper H.H., Le Chevalier T., Pirker R.: Multidrug resistance proteins do not predict benefit of adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small cell lung cancer: International Adjuvant Lung Cancer Trial Biologic Program. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 3892–3898
- [17] Gandhi L., Harding M.W., Neubauer M., Langer C.J., Moore M., Ross H.J., Johnson B.E., Lynch T.J.: A phase II study of the safety and efficacy of the multidrug resistance inhibitor VX-710 combined with doxorubicin and vincristine in patients with recurrent small cell lung cancer. *Cancer*, 2007; 109: 924–932
- [18] Germann U.A., Chambers T.C.: Molecular analysis of the multidrug transporter, P-glycoprotein. *Cytochemistry*, 1998; 27: 31–60
- [19] Grzywacz M.J., Yang J.M., Hait W.N.: Effect of the multidrug resistance protein on the transport of the antiandrogen flutamide. *Cancer Res.*, 2003; 63: 2492–2498
- [20] Hipfner D.R., Deeley R.G., Cole S.P.: Structural, mechanistic and clinical aspects of MRP1. *Biochem. Biophys. Acta*, 1999; 1461: 359–376
- [21] Huang Y., Ibrado A.M., Reed J.C., Bullock G., Ray S., Tang C., Bhalla K.: Co-expression of several molecular mechanisms of multidrug resistance and their significance for paclitaxel cytotoxicity in human AML HL-60 cells. *Leukemia*, 1997; 11: 253–257
- [22] Ito K., Olsen S.L., Qiu W., Deeley R.G., Cole S.P.: Mutation of a single conserved tryptophan in multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1) results in loss of drug resistance and selective loss of organic anion transport. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 15616–15624
- [23] Jakubowicz-Gil J., Rzeski W., Zdzisińska B., Piersiak T., Weiksza K., Glowinski K., Gawron A.: Different sensitivity of neurons and neuroblastoma cells to quercetin treatment. *Acta Neurobiol. Exp.*, 2008; 68: 463–476
- [24] Katayama R., Koike S., Sato S., Sugimoto Y., Tsuruo T., Fujita N.: Dofequidar fumarate sensitizes cancer stem-like side population cells to chemotherapeutic drugs by inhibiting ABCG2/BCRP-mediated drug export. *Cancer Sci.*, 2009; 100: 2060–2068
- [25] Koike K., Oleschuk C.J., Haimeur A., Olsen S.L., Deeley R.G., Cole S.P.: Multiple membrane-associated tryptophan residues contribute to the transport activity and substrate specificity of the human multidrug resistance protein, MRP1. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 49495–49503
- [26] Kool M., van der Linden M., de Haas M., Scheffer G.L., de Vree J.M., Smith A.J., Jansen G., Peters G.J., Ponne N., Schepers R.J., Elferink R.P., Baas F., Borst P.: MRP3, an organic anion transporter able to transport anti-cancer drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 6914–6919
- [27] Kuan C.T., Wakiya K., Herndon J.E. II., Lipp E.S., Pegram C.N., Riggins G.J., Rasheed A., Szafranski S.E., McLendon R.E., Wikstrand C.J., Bigner D.D.: MRP3: a molecular target for human glioblastoma multiforme immunotherapy. *BMC Cancer*, 2010; 10: 468
- [28] Lee J.T., Steelman L.S., McCubrey J.A.: Phosphatidylinositol 3-kinase activation leads to multidrug resistance protein-1 expression and subsequent chemoresistance in advanced prostate cancer cells. *Cancer Res.*, 2004; 64: 8397–8404
- [29] Leslie E.M., Deeley R.G., Cole S.P.: Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2005; 204: 216–237
- [30] Leslie E.M., Deeley R.G., Cole S.P.: Toxicological relevance of the multidrug resistance protein 1, MRP1 (ABCC1) and related transporters. *Toxicology*, 2001; 167: 3–23



- [31] Leslie E.M., Ghibellini G., Nezasa K., Brouwer K.L.: Biotransformation and transport of the tobacco-specific carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in bile duct-cannulated wild-type and *Mrp2/Abcc2*-deficient (TR2) Wistar rats. *Carcinogenesis*, 2007; 28: 2650-2656
- [32] Leslie E.M., Ito K., Upadhyaya P., Hecht S.S., Deeley R.G., Cole S.P.: Transport of the  $\beta$ -O-glucuronide conjugate of the tobacco-specific carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL) by the multidrug resistance protein 1 (MRP1) requirement for glutathione or a non-sulfur-containing analog. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 27846-27854
- [33] Leslie E.M., Létourneau I.J., Deeley R.G., Cole S.P.: Functional and structural consequences of cysteine substitutions in the NH2 proximal region of the human multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1). *Biochemistry*, 2003; 42: 5214-5224
- [34] Li Q., Jiang Q., Pfendner E., Váradi A., Uitto J.: Pseudoxanthoma elasticum: clinical phenotypes, molecular genetics and putative pathomechanisms. *Exp. Dermatol.*, 2009; 18: 1-11
- [35] Limtrakul P., Anuchapreeda S., Buddhasukh D.: Modulation of human multidrug-resistance MDR-1 gene by natural curcuminoids. *BMC Cancer*, 2004; 4: 13
- [36] Limtrakul P., Chearwae W., Shukla S., Phisalpong C., Ambudkar S.V.: Modulation of function of three ABC drug transporters, P-glycoprotein (ABCB1), mitoxantrone resistance protein (ABCG2) and multidrug resistance protein 1 (ABCC1) by tetrahydrocurcumin, a major metabolite of curcumin. *Mol. Cell. Biochem.*, 2007; 296: 85-95
- [37] Ling V.: Multidrug resistance: molecular mechanisms and clinical relevance. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1997; 40: S3-S8
- [38] Loe D.W., Almquist K.C., Cole S.P., Deeley R.G.: ATP-dependent 17 $\beta$ -estradiol 17-( $\beta$ -D-glucuronide) transport by multidrug resistance protein (MRP) inhibition by cholestatic steroids. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 9683-9689
- [39] Loe D.W., Almquist K.C., Deeley R.G., Cole S.P.: Multidrug resistance protein (MRP)-mediated transport of leukotriene C4 and chemotherapeutic agents in membrane vesicles demonstration of glutathione-dependent vincristine transport. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 9675-9682
- [40] Lopes E.C., Garcia M., Benavides F., Shen J., Conti C.J., Alvarez E., Hajos S.E.: Multidrug resistance modulators PSC 833 and CsA show differential capacity to induce apoptosis in lymphoid leukemia cell lines independently of their MDR phenotype. 2003; 27: 413-423
- [41] Mao Q., Unadkat J.D.: Role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in drug transport. *AAPS J.*, 2005; 7: E118-E133
- [42] Marchione R., Kim N., Kirsner R.S.: Pseudoxanthoma elasticum: new insights. *J. Invest. Dermatol.*, 2009; 129: 258
- [43] Mi Y.J., Liang Y.J., Huang H.B., Zhao H.Y., Wu C.P., Wang F., Tao L.Y., Zhang C.Z., Dai C.L., Tiwari A.K., Ma X.X., To K.K., Ambudkar S.V., Chen Z.S., Fu L.W.: Apatinib (YN968D1) reverses multidrug resistance by inhibiting the efflux function of multiple ATP-binding cassette transporters. *Cancer Res*, 2010; 70: 7981-7991
- [44] Nasilowska B.: Geny oporności na leki. *Postepy Nauk Med.*, 2003; 3: 99-105
- [45] Norris M.D., Smith J., Tanabe K., Tobin P., Flemming C., Scheffer G.L., Wielinga P., Cohn S.L., London W.B., Marshall G.M., Allen J.D., Haber M.: Expression of multidrug transporter MRP4/ABCC4 is a marker of poor prognosis in neuroblastoma and confers resistance to irinotecan *in vitro*. *Mol. Cancer Ther.*, 2005; 4: 547-553
- [46] O'Connor R., Heenan M., Connolly L., Larkin A., Clynes M.: Increased anti-tumour efficacy of doxorubicin when combined with sulindac in a xenograft model of an MRP-1-positive human lung cancer. *Anticancer Res.*, 2004; 24: 457-464
- [47] Pakunlu R.I., Wang Y., Tsao W., Pozharov V., Cook T.J., Minko T.: Enhancement of the efficacy of chemotherapy for lung cancer by simultaneous suppression of multidrug resistance and antiapoptotic cellular defense: novel multicomponent delivery system. *Cancer Res.*, 2004; 64: 6214-6224
- [48] Peaston A.E., Gardaneh M., Franco A.V., Hocker J.E., Murphy K.M., Farnsworth M.L., Catchpole D.R., Haber M., Norris M.D., Lock R.B., Marshall G.M.: *MRP1* gene expression level regulates the death and differentiation response of neuroblastoma cells. *Br. J. Cancer*, 2001; 85: 1564-1571
- [49] Peng H., Qi J., Dong Z., Zhang J.T.: Dynamic vs static ABCG2 inhibitors to sensitize drug resistant cancer cells. *PLoS. One*, 2010; 5: e15276
- [50] Pérez-Tomás R.: Multidrug resistance: retrospect and prospects in anti-cancer drug treatment. *Curr. Med. Chem.*, 2006; 13: 1859-1876
- [51] Perrotton T., Tromprier D., Chang X.B., Di Pietro A., Baubichon-Cortay H.: R- and S-verapamil differentially modulate the multidrug resistance protein MRP1. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 31542-31548
- [52] Plasschaert S.L., de Bont E.S., Boezen M., vander Kolk D.M., Daenen S.M., Faber K.N., Kamps W.A., de Vries E.G., Vellenga E.: Expression of multidrug resistance-associated proteins predicts prognosis in childhood and adult acute lymphoblastic leukemia. *Clin. Cancer Res.*, 2005; 11: 8661-8668
- [53] Qian Y.M., Song W.C., Cui H., Cole S.P., Deeley R.G.: Glutathione stimulates sulfated estrogen transport by multidrug resistance protein 1. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 6404-6411
- [54] Reid G., Wielinga P., Zelcer N., van der Heijden I., Kuil A., de Haas M., Wijnholds J., Borst P.: The human multidrug resistance protein MRP4 functions as a prostaglandin efflux transporter and is inhibited by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 9244-9249
- [55] Renes J., de Vries E.G., Nienhuis E.F., Jansen P.L., Müller M.: ATP- and glutathione-dependent transport of chemotherapeutic drugs by the multidrug resistance protein MRP1. *Br. J. Pharmacol.*, 1999; 126: 681-688
- [56] Riedel R.F., Porrello A., Pontzer E., Chenette E.J., Hsu D.S., Balakumaran B., Potti A., Nevins J., Febbo P.G.: A genomic approach to identify molecular pathways associated with chemotherapy resistance. *Mol. Cancer Ther.*, 2008; 7: 3141-3149
- [57] Rothnie A., Conseil G., Lau A.Y., Deeley R.G., Cole S.P.: Mechanistic differences between GSH transport by Multidrug Resistance Protein 1 (MRP1/ABCC1) and GSH modulation of MRP1-mediated transport. *Mol. Pharmacol.*, 2008; 74: 1630-1640
- [58] Salerno M., Garnier-Suillerot A.: Kinetics of glutathione and daunorubicin efflux from multidrug resistance protein overexpressing small-cell lung cancer cells. *Eur. J. Pharmacol.*, 2001; 421: 1-9
- [59] Sampath J., Sun D., Kidd V.J., Grenet J., Gandhi A., Shapiro L.H., Wang Q., Zambetti G.P., Schuetz J.D.: Mutant p53 cooperates with ETS and selectively up-regulates human MDR1 not MRP1. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 39359-39367
- [60] Sasaki T., Hirota T., Ryokai Y., Kobayashi D., Kimura M., Irie S., Higuchi S., Ieiri I.: Systematic screening of human *ABCC3* polymorphisms and their effects on MRP3 expression and function. *Drug. Metab. Pharmacokinet.* 2011 (w druku)
- [61] Schinkel A.H.: The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Semin. Cancer Biol.*, 1997; 8: 161-170
- [62] Stein U., Lage H., Jordan A., Walther W., Bates S.E., Litman T., Hohenberger P., Dietel M.: Impact of BCRP/MXR, MRP1, and MDR1/P-Glycoprotein on thermoresistant variants of atypical and classical multidrug resistant cancer cells. *Int. J. Cancer*, 2002; 97: 751-760
- [63] Straub T., Boesenberg C., Gekeler V., Boege F.: The dihydropyridine dextriguldipine hydrochloride inhibits cleavage and religation reactions of eukaryotic DNA topoisomerase I. *Biochemistry*, 1997; 36: 10777-10783
- [64] Sullivan G.F., Yang J.M., Vassil A., Yang J., Bash-Babula J., Hait W.N.: Regulation of expression of the multidrug resistance protein MRP1 by p53 in human prostate cancer cells. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 1261-1267
- [65] Takahashi K., Shibata T., Oba T., Ishikawa T., Yoshikawa M., Tatsunami R., Takahashi K., Tampo Y.: Multidrug-resistance-associated protein plays a protective role in menadione-induced oxidative stress in endothelial cells. *Life Sci.*, 2009; 84: 211-217
- [66] Teodori E., Dei S., Martelli C., Scapecchi S., Gualtieri F.: The functions and structure of ABC transporters: implications for the design of new inhibitors of Pgp and MRP1 to control multidrug resistance (MDR). *Curr. Drug Targets*, 2006; 7: 893-909
- [67] Tolcher A.W., Cowan K.H., Solomon D., Ognibene F., Goldspiel B., Chang R., Noone M.H., Denicoff A.M., Barnes C.S., Gossard M.R., Fetsch P.A., Berg S.L., Balis F.M., Venzon D.J., O'Shaughnessy J.A.: Phase I crossover study of paclitaxel with r-verapamil in patients with metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 1996; 14: 1173-1184
- [68] Toyoda Y., Ishikawa T.: Pharmacogenomics of human ABC transporter ABCC11 (MRP8): potential risk of breast cancer and chemotherapy failure. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 2010; 10: 617-624
- [69] Triller N., Korošec P., Kern I., Kosnik M., Debeljak A.: Multidrug resistance in small cell lung cancer: Expression of P-glycoprotein, multidrug resistance protein 1 and lung resistance protein in chemo-naïve patients and in relapsed disease. *Lung Cancer*, 2006; 54: 235-240

- [70] Uchiyama T., Hinoshita E., Haga S., Nakamura T., Tanaka T., Toh S., Furukawa M., Kawabe T., Wada M., Kagotani K., Okumura K., Kohno K., Akiyama S., Kuwano M.: Isolation of a novel human canalicular multispecific organic anion transporter, cMOAT2/MRP3, and its expression in cisplatin-resistant cancer cells with decreased ATP-dependent drug transport. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; 252: 103–110
- [71] Wijnholds J., Mol C.A., van Deemter L., de Haas M., Scheffer G.L., Baas F., Beijnen J.H., Scheper R.J., Hatse S., De Clercq E., Balzarini J., Borst P.: Multidrug-resistance protein 5 is a multispecific organic anion transporter able to transport nucleotide analogs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 7476–7481
- [72] Wittgen H.G., van den Heuvel J.J., van den Broek P.H., Dinter-Heidorn H., Koenderink J.B., Russel F.G.: Cannabinoid CB1 receptor antagonists modulate transport activity of multidrug resistance-associated proteins MRP1, MRP2, MRP3, and MRP4. *Drug Metab. Dispos.*, 2011; 39: 1294–1302
- [73] Yeheskely-Hayon D., Regev R., Katzir H., Eytan G.D.: Competition between innate multidrug resistance and intracellular binding of rhodamine dyes. *FEBS J.*, 2009; 276: 637–648
- [74] Yu X.Q., Xue C.C., Wang G., Zhou S.F.: Multidrug resistance associated proteins as determining factors of pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Curr. Drug Metab.*, 2007; 8: 787–802
- [75] Zalberg J., Hu X.F., Slater A., Parisot J., El-Osta S., Kantharidis P., Chou S.T., Parkin J.D.: MRP1 not MDR1 gene expression is the predominant mechanism of acquired multidrug resistance in two prostate carcinoma cell lines. *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, 2000; 3: 66–75
- [76] Zelcer N., Reid G., Wielinga P., Kuil A., van der Heijden I., Schuetz J.D., Borst P.: Steroid and bile acid conjugates are substrates of human multidrug-resistance protein (MRP) 4 (ATP-binding cassette C4). *Biochem. J.*, 2003; 371: 361–367
- [77] Zhou S.F., Wang L.L., Di Y.M., Xue C.C., Duan W., Li C.G., Li Y.: Substrates and inhibitors of human multidrug resistance associated proteins and the implications in drug development. *Curr. Med. Chem.*, 2008; 15: 1981–2039
- [78] Zhou X.F., Coburn R.A., Morris M.E.: Effects of new 4-aryl-1,4-dihydropyridines and 4-arylpyridines on drug efflux mediated by multidrug resistance-associated protein 1. *J. Pharm. Sci.*, 2005; 94: 2256–2265
- [79] Zhou X.F., Yang X., Wang Q., Coburn R.A., Morris M.E.: Effects of dihydropyridines and pyridines on multidrug resistance mediated by breast cancer resistance protein: *in vitro* and *in vivo* studies. *Drug Metab. Dispos.*, 2005; 33: 1220–1228

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.