

Lekooporność nowotworów – problem nie tylko u ludzi*)

KATARZYNA SZYSZKO*, KAROL M. PAWŁOWSKI*/**,
TOMASZ MOTYL*, MAGDALENA KRÓL*

*Katedra Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa,

**Katedra Biologii Środowiska Zwierząt Wydziału Nauk o Zwierzętach SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Szyszko K., Pawłowski K. M., Motyl T., Król M.

Chemoresistance in cancer – not only a human problem

Summary

Chemoresistance is the main problem in human and veterinary oncology. The most important mechanism of chemoresistance is the expression of efflux pumps from the ABC superfamily, which remove drugs from cancer cells, thus rendering the treatment ineffective. The most important efflux pumps are P-glycoprotein (PGP), multidrug resistance protein 1 (MRP1), multidrug resistance protein 3 (MRP3), and breast cancer resistance protein (BCRP). In humans the expression of efflux pumps, their mechanism of action, and substrates are well described. Little is known, however, about chemoresistance in veterinary medicine. Only a few experiments have been performed, using canine mammary tumors, but the expression of efflux pumps and their substrates are still insufficiently researched. Moreover, preliminary data suggest great differences between various species. This fact underlines the need for a thorough examination of efflux pump substrates in animals because veterinary patients are usually treated according to human chemotherapy protocols.

Keywords: chemoresistance, ABC superfamily, efflux pumps, P-glycoprotein (PGP), multidrug resistance associated protein (MRP), breast cancer resistance protein (BCRP)

Oporność komórek nowotworowych na leki cytotatyczne należy do najważniejszych przyczyn niepowodzeń terapii zarówno w onkologii ludzkiej, jak i weterynaryjnej. Obecnie wiadomo, że oporność na chemioterapeutyki jest procesem złożonym, a jego dokładne poznanie pozwoliłoby poprawić efekty leczenia. Najważniejszym mechanizmem odpowiedzialnym za to zjawisko jest oporność wielolekowa (MDR – multidrug resistance) związana z ekspresją białek błonowych należących do nadrodziny ABC (ATP Binding Cassette), które w sposób aktywny wypompowują leki na zewnątrz komórki. Opornością wielolekową nazywamy niewrażliwość komórek nowotworowych na kilka leków (z różnych grup) o odmiennych mechanizmach działania (23). Najczęściej do wykształcenia się oporności dochodzi dopiero po podaniu cytostatyku, ale niektóre komórki nowotworowe mogą wykazywać ekspresję białek błonowych z nadrodziny ABC już przed rozpoczęciem jakiegokolwiek terapii. Inne przyczyny niewrażliwości nowotworów na leczenie, to: wysoki potencjał antyapoptotyczny komórek nowotworowych, zmniejszona przenikalność i skuteczność leku (słabo rozwinięte unaczynienie guza, panujące

w guzie beztlenowe warunki, które obniżają działanie leku) lub zwiększona jego dezaktywacja (skuteczna dawka byłaby letalna dla pacjenta), obecność komórek dzielących się – w fazie G_0 , itp. (19).

Do nadrodziny ABC zaliczamy obecnie ponad 50 białek występujących zarówno u organizmów prokariotycznych, jak i eukariotycznych (14, 23, 38). Białka te transportują substraty w sposób aktywny, korzystając z energii pochodzącej z hydrolizy ATP. Transportowi temu podlegają nie tylko leki, ale również białka, lipidy, sacharydy, metale czy toksyny (3, 22). Należy wspomnieć, iż pompy te zaangażowane są zarówno w usuwanie substratów z komórki na zewnątrz (mechanizm wykorzystywany w oporności wielolekowej), jak też w transport międzykomórkowy (38). Najlepiej poznana i najczęściej zaangażowana w mechanizm oporności wielolekowej pompą błonową jest glikoproteina P (PGP – P-glycoprotein), choć badając przyczyny niepowodzeń terapii, należy także brać pod uwagę również białko oporności wielolekowej typu 1 (MRP1 – Multidrug resistance protein 1), białko oporności wielolekowej typu 3 (MRP3 – Multidrug resistance protein 3) oraz białko oporności raka sutka (BCRP, Breast cancer resistance protein) znane także w onkologii ludzkiej pod nazwą białka oporności-

*) Badania finansowane w ramach grantu MNiSzW nr: N N308 574940.

ci na mitoksantron (MXR – Mitoxantrone resistance) (11, 17, 19, 23, 29).

Budowa i mechanizm działania pomp błonowych z nadrodziny ABC

Typowy transporter z nadrodziny ABC zbudowany jest z dwóch hydrofobowych domen przezbłonowych (TMD – trans-membrane domain) oraz dwóch domen wiążących nukleotydy (NBD – nucleotide-binding domain). TMD składają się z przezbłonowych helis, a ich funkcją jest rozpoznawanie i wiązanie substratów dla pompy (3, 11, 38). Uważa się, że zmiany kształtu i ułożenia tych helis skutkują „otwieraniem” lub „zamykaniem” całej pompy błonowej i specyficznością substratową (11). Jeśli pompa błonowa zawiera 2 domeny TMD, mówimy, że jest ona pełnym transporterem (np. PGP, MRP). Transporter może jednak zawierać tylko jedną domenę TMD i nazywany jest półtransporterem (np. BCRP). Aby półtransporter mógł spełniać swoją funkcję, musi dojść do homo- lub heterodimeryzacji (12). W odróżnieniu od domen przezbłonowych, liczba i budowa domen wiążących nukleotydy jest stała we wszystkich pompach występujących u wszystkich gatunków zwierząt i u człowieka. Każda z pomp błonowych zawiera dwie domeny NBD, z których każda wyposażona jest w dwa miejsca bezpośrednio zaangażowane w hydrolizę ATP, co dostarcza energii koniecznej do funkcjonowania pompy (3, 11, 23, 38).

Mechanizm działania pomp z nadrodziny ABC nie został do końca wyjaśniony. Istnieją dwie główne hipotezy, z których jedna zakłada, iż działają one na zasadzie flipaz, a więc usuwają hydrofobowe substraty (bądź koniugaty) z cytoplazmatycznej do zewnętrznej części dwuwarstwy lipidowej, skąd mogą one dyfundować na zewnątrz. Druga teoria zakłada, że transportery działają jak „zmiatacz hydrofobowy” (hydrophobic vacuum cleaner), który usuwa substraty hydrofobowe z dwuwarstwy lipidowej na zewnątrz komórki (3, 23). Podejmowane są kliniczne oraz eksperymentalne próby zahamowania aktywności tych pomp (inhibitory lub nukleotydy antysensowne podawane wraz z cytostatykami), jednak efekty takiej terapii pozostawiają jeszcze wiele do życzenia (19).

Glikoproteina P (PGP)

Glikoproteina P jest najlepiej poznany białkiem z nadrodziny ABC, a po raz pierwszy została ona opisana w 1976 r. U ludzi, w warunkach fizjologicznych stwierdza się jej obecność między innymi w komórkach: nabłonka jelit, wątroby, nerek, śródbłonka naczyń włosowatych płuc, jąder czy komórkach układu limfatycznego (11, 22, 23, 40). Pompa ta jest ważną składową bariery krew–mózg (27) oraz bariery łożyskowej (9, 24). Takebayashi i wsp. (41) wykazali ekspresję PGP w oocytach świń, choć jej rola w tych komórkach nie jest jeszcze poznana. Z kolei Roulet i wsp. wykazali, że polimorfizm PGP powoduje nadwrażliwość niektórych ras psów na iwermektynę (33).

W 2005 roku w Niemczech przebadano 1500 psów i wykazano polimorfizm PGP u 37% psów rasy wael-ler, 33% psów rasy owczarek szkocki collie, 12,5% owczarków staroangielskich bobtail, 6,9% owczarków australijskich i 5,7% owczarków szetlandzkich (10). Od 1982 r. glikoproteina P stała się obiektem zainteresowania onkologów, kiedy to komórki wrażliwe na chemioterapeutyki poddano transfekcji DNA komórek lekoopornych, doprowadzając do powstania w nich lekooporności (5). Obecnie już wiadomo, że jest ona jedną z głównych pomp odpowiedzialnych za zjawisko oporności wielolekowej zarówno w nowotworach u ludzi, jak i u zwierząt. Największe znaczenie wydaje się mieć nadekspresja tej pompy w gruczolakorakach płuc, jajników, piersi u kobiet oraz w niektórych mięsach (37). Nadekspresję PGP stwierdzono również w ostrych i przewlekłych białaczkach szpikowych, chłoniakach nieziarnicznych i przewlekłych białaczkach limfatycznych (23). Co więcej, stwierdzono, iż przed leczeniem ekspresja PGP występuje u 30% chorych na ostrą białaczkę szpikową, a w przypadku nawrotu tej choroby już u 50%. Na podstawie tych obserwacji wysunięto hipotezę, że to właśnie komórki wykazujące ekspresję pomp błonowych są odpowiedzialne za rozwój choroby resztkowej (13).

Z oczywistych przyczyn najczęściej badań dotyczy ekspresji PGP w nowotworach ludzkich. Pojawiło się jednak kilka prac opisujących ekspresję tej pompy w nowotworach u psów, m.in. wykazano ją aż w 96,4% badanych gruczolakoraków i 75% gruczolaków sutka (15), a także w liniach gruczolakoraków sutka charakteryzujących się wysokim potencjałem do przerzutowania (20). Ekspresję PGP opisano także w guzach z komórek tłuszcznych u psów (30) oraz w chłoniakach, gdzie ekspresja tej pompy jest podobna jak w chłoniakach nieziarnicznych u ludzi (1, 21).

Badanie ekspresji PGP przed rozpoczęciem chemioterapii ma ogromne znaczenie, ponieważ jej substratami jest większość cytostatyków stosowanych w leczeniu nowotworów u ludzi, np.: daunorubicyna, doksorubicyna, epirubicyna, mitoksantron (antracykliny), winblastyna i winkrystyna (alkaloidy różanecznika), etopozyd i tenipozyd (epipodylofilotoksyny), aktynomycyna D (antybiotyk), paklitaksel i docetaksel (tak-sany) (22, 25).

Białko oporności wielolekowej typu 1 (MRP1)

Do 1992 roku glikoproteina P uważana była za jedyną pompę odpowiedzialną za eliminowanie leków z komórek nowotworowych. Jednak badania nad opornością na doksorubicynę linią drobnokomórkowego raka płuc pozwoliły na odkrycie innych pomp, m.in. MRP1 (4). Białko oporności wielolekowej typu 1 (MRP1), podobnie jak białko oporności wielolekowej typu 3 (MRP3), transportuje substraty w postaci koniugatów z glutationem, kwasem glukuronowym lub w postaci koniugatów siarczanowych (2, 6, 28, 38). Ten sposób transportu odróżnia je od PGP.

MRP1 transportuje wiele różnych substratów, np.: metale, antybiotyki, leki cytostaticzne, leki przeciw-wirusowe, bilirubinę, peptydy, toksyny. Niektóre substancje, jak np. aflatoksyna B1 mogą być transportowane w formie wolnej albo połączone z glutationem. Uważa się, że poziom glutationu jest czynnikiem ograniczającym możliwość transportu wielu substratów przez MRP1. Za najważniejszą fizjologiczną funkcję MRP1 uważa się transport leukotrienu C4 (11, 26). Podobnie jak w przypadku PGP, ekspresją tej pompy charakteryzują się prawie wszystkie zdrowe tkanki ssaków, a także wiele nowotworów (12). Badania przeprowadzone u zwierząt wykazały ekspresję MRP1 w oocytach świń (41), a także komórkach nabłonka jelit, komórkach wątroby i nerek u koni (42). U ludzi opisano ekspresję MRP1 w nowotworach płuc (43), białaczkach (12), nowotworach piersi (31), żołądka, tarczycy (28) czy nowotworach pęcherza moczowego (23). Badania przeprowadzone przez niemieckich naukowców dowodzą, że ekspresją MRP1 charakteryzuje się aż 100% nowotworów sutka suk (15). Wykazano także 92% podobieństwo sekwencji aminokwasów białka MRP1 u psów i u ludzi. Funkcja MRP1 u obu gatunków jest także podobna (28). W nowotworach u ludzi substratami dla tej pompy są: metoteksat (antagonista kwasu foliowego z grupy antymetabolitów), winblastyna i winkrystyna, etopozyd, tenipozyd i doksorubicyna. Wydaje się, iż ze względu na podobieństwo pomiędzy ludzkim a psim białkiem specyficzność substratowa również będzie zbliżona, ale, niestety, na razie brak jest badań na ten temat.

Białko oporności wielolekowej typu 3 (MRP3)

W warunkach fizjologicznych ekspresję MRP3 stwierdzono w komórkach trzustki, wątroby, jelit, nerek oraz kory nadnerczy (12). Ciągłe trwają badania mające na celu określenie, w jakich nowotworach występuje ekspresja MRP3, choć do tej pory stwierdzono ją w nowotworach trzustki (18), ostrej białaczce limfatycznej (39) i w nowotworach piersi (8). Uważa się, że substratami dla białka oporności wielolekowej typu 3 są: etopozyd, tenipozyd, winkrystyna, doksorubicyna, cisplatyna (nieorganiczny związek platyny) i metoteksat. Niewiele wiadomo o ekspresji MRP3 w nowotworach u psów. W 2009 r. Honsha i wsp. wykazali ekspresję MRP3 w 96,1% ze wszystkich 75 przebadanych nowotworów sutka suk (15). Brak jest badań nad specyficznością substratową MRP3 u psów.

Białko oporności raka sutka (BCRP)

Białko oporności raka sutka zostało odkryte stosunkowo niedawno. W warunkach fizjologicznych ekspresję BCRP stwierdzono w łożysku, komórkach wątroby, jelit cienkich, płuc, kory nadnerczy, nerek, gdzie pełni funkcję ochronną organizmu przed szkodliwymi substancjami. Ekspresję BCRP wykazano również w komórkach macierzystych (7, 17). Wysoką ekspresję BCRP stwierdzono także w komórkach nabłonka

jelit i hepatocytach koni (42). Choć wiadomo, że BCRP transportuje wiele leków i metabolitów, to wciąż trwają badania nad poszukiwaniem nowych substratów dla tej pompy (7, 11). U ludzi stwierdzono ekspresję BCRP w nowotworach piersi, jelit, żołądka i jajników. Podejrzewany jest także udział tego białka w oporności na leki ostrych białaczek mieloidalnych (7). Substratami dla BCRP jest głównie mitoksantron, ale też topotekan i doksorubicyna (12, 17).

Nowak i wsp. wykazali, że aż 85% badanych gruczolakoraków gruczołu sutkowego suki wykazuje ekspresję BCRP (32), podczas gdy Honsha i wsp. stwierdzili ekspresję tego białka w 100% badanych nowotworów sutka u psów (15). Co więcej, autorzy dowiedli, że BCRP zapewnia silną oporność na doksorubicynę (powszechnie stosowaną w leczeniu raka piersi u kobiet pomimo ekspresji BCRP), ale nie powoduje oporności na metoteksat (u ludzi metoteksat jest substratem dla BCRP) (15). Są to doniesienia wskazujące na pewne różnice substratowe pomiędzy nowotworami u zwierząt i u ludzi.

Adaptacja ludzkich protokołów chemioterapii w onkologii weterynaryjnej

Z weterynaryjnego punktu widzenia informacje dotyczące rozbieżności pomiędzy substratami dla poszczególnych pomp błonowych pomiędzy gatunkami są bardzo ważne, ponieważ podważają one zasadność adaptacji ludzkich protokołów chemioterapii w medycynie weterynaryjnej. W przeciwieństwie do medycyny ludzkiej (tab. 1), do tej pory niewiele jest wiadomości na temat specyficzności substratowej dla poszczególnych pomp błonowych u zwierząt. Najlepiej poznano ekspresję pomp z nadrodziny ABC w nowotworach sutka u suk, a informacje te pozwalają na wstępną analizę metod i rezultatów leczenia. Badania przeprowadzone przez zespół niemieckich naukowców (35) wykazały, że leczenie suk po mastektomii chemioterapeutykami stosowanymi u kobiet z rakiem piersi (doksorubicyną i docetakselem) nie poprawiły skutków leczenia (brak różnic w tendencji do powstawania wznowy i przerzutów oraz brak różnic czasu przeżycia). Badania grupy brazylijskich naukowców także podważają zasadność stosowania doksorubicyny u psów z nowotworami gruczołu sutkowego, bowiem tylko 9 z 38 nowotworów wykazało reakcję na podawanie tego leku (36), natomiast u kilku psów autorzy zaobserwowali wystąpienie poważnych reakcji ubocznych na lek. A zatem stosowanie ludzkiego protokołu chemioterapii u suk po mastektomii nie tylko nie przynosi dobrych skutków, ale – co więcej – szkodzi. Powyższe wyniki są klinicznym potwierdzeniem obserwacji zespołów Honshy i Nowaka (15, 32) dotyczących ekspresji BCRP w większości nowotworów sutka u suk oraz silnej oporności na doksorubicynę zapewnianej przez to białko. U ludzi BCRP zapewnia oporność głównie na mitoksantron, a w mniejszym stopniu na doksorubicynę, dlatego jest ona powszech-

Tab. 1. Najważniejsze pompy błonowe występujące w nowotworach: PGP, MRP1, MRP3 i BCRP oraz ich substraty należące do cytostatyków u ludzi (na podstawie danych z piśmiennictwa)

Pompa błonowa	Znane substraty u ludzi
Glikoproteina P (PGP)	Daunorubicyna, Doksorubicyna, Epirubicyna, Mitoksantron, Winblastyna, Winkrystyna, Etopozyd, Tenipozyd, Aktynomycyna D, Docetaksel, Paklitaksel (22, 25)
Białko oporności wielolekowej typu 1 (MRP1)	Doksorubicyna, Metotreksat, Winblastyna, Winkrystyna, Etopozyd, Tenipozyd (6, 12)
Białko oporności wielolekowej typu 3 (MRP3)	Doksorubicyna, Cisplatyna, Metotreksat, Winkrystyna, Etopozyd, Tenipozyd (2, 12)
Białko oporności raka sutka (BCRP)	Daunorubicyna, Doksorubicyna, Mitoksantron, Topotekan (7, 12, 17)

nie stosowana w protokołach chemioterapii u kobiet z rakiem sutka. Podobnie, niektórzy autorzy podważają zasadność stosowania cisplatyny w przypadku nowotworów sutka suk (często stosowanej w leczeniu raka piersi u kobiet), ponieważ tylko niewielka część zwierząt reaguje na dawki tolerowane klinicznie (34). Nie oznacza to jednak, że lekarze weterynarii są zupełnie bezradni. Optymistyczne są doniesienia opisujące poprawę czasu przeżycia oraz wydłużenia czasu do wznowy u suk po mastektomii w wyniku podawania 5-fluorouracylu oraz cyklofosfamidu (16). Wyniki tych wstępnych i często sprzecznych u różnych gatunków badań pokazują, jak istotne z klinicznego punktu widzenia jest dokładne poznanie ekspresji pomp błonowych oraz ich substratów u zwierząt. Należy także przestrzec przed zbyt swobodnym przenoszeniem ludzkich protokołów chemioterapii na grunt weterynaryjny bez podstaw naukowych. Pozwoli to postępować zgodnie z naczelną lekarską zasadą etyczną: *primum non nocere*.

Piśmiennictwo

- Bergman P. J., Oglinie G. K., Powers B. E.: Monoclonal antibody C219 immunohistochemistry against P-glycoprotein: sequential analysis and predictive ability in dogs with lymphoma. J. Vet. Intern. Med. 1996, 10, 354-359.
- Borst P., de Wolf C., van de Wetering K.: Multidrug resistance-associated proteins 3,4,5. Eur. J. Physiol. 2007, 453, 661-673.

- Chang G.: Multidrug Resistance ABC transporters. FEBS Letters 2003, 555, 102-105.
- Cole S. P., Bhardwaj G., Gerlach J. H., Mackie J. E., Grant C. E., Almqvist K. C., Stewart A. J., Kurz E. U., Duncan A. M., Deeley R. G.: Overexpression of a transporter gene in a multidrug resistant human lung cancer cell line. Science 1992, 258, 1650-1654.
- Debenham P. G., Kartner N., Siminovitch L., Riordan J. R., Ling V.: DNA-mediated transfer of multiple drug resistance and plasma membrane glycoprotein expression. Mol. Cell. Biol. 1982, 2, 881-889.
- Deeley R. G., Cole S. P. C.: Substrate recognition and transport by multidrug resistance protein1 (ABCC1). FEBS Lett. 2006, 580, 1103-1111.
- Ejendal K. F. K., Hrycyna C. A.: Multidrug resistance and cancer: The role of The Human Transporter ABCG2. Curr. Protein. Pept. Sci. 2002, 3, 503-511.
- Faneyte I. F., Kristel P. M., Vijver M. J. van de: Multidrug resistance associated genes MRP1, MRP2 and MRP3 in primary and anthracycline exposed breast cancer. Anticancer Res. 2004, 24, 2931-2939.
- Fromm M. F.: Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barrier. Trends Pharmacol. Sci. 2004, 25, 423-429.
- Geyer J., Doring B., Goday J. R., Leidolf R., Moritz A., Petzinger E.: Frequency of the nt230(del4) MDR1 mutation in Collies and related breeds in Germany. Pharmacol. Therap. 2005, 28, 545-551.
- Glavinas H., Krajcsi P., Cserepes J., Sarkadi B.: The role of ABC Transporters in Drug Resistance, Metabolism and Toxicity. Curr. Drug. Deliv. 2004, 1, 27-42.
- Gottesman M., Fojo T., Bates S.: Multidrug Resistance in Cancer: role of ATP-dependent Transporters. Nature Rev. Cancer 2002, 2, 48-58.
- Han K., Kahng J., Kim M.: Expression of functional markers in acute non-lymphoblastic leukemia. Acta Haematol. 2000, 104, 174-180.
- Higgins C. F.: ABC transporters from microorganism to man. Annu. Rev. Cell. Bio. 1992, 8, 67-113.
- Honsha K. U., Schrimmer A., Reischauer A., Schoon H. A., Einspanier A., Gabel G.: Expression of ABC-Transport Proteins in Canine Mammary Cancer: Consequences for Chemotherapy. Reprod. Dom. Anim. 2009, 44, 218-223.
- Karayannopoulou M., Kaldrymidou E., Constantinidis T. C.: Adjuvant post-operative chemotherapy in bitches with mammary cancer. J. Vet. Med. A 2001, 48, 85-96.
- Kim M., Tunquist H., Jackson J., Sgagias S., Yan Y., Gang M., Dean M., Sharp J. G., Cowan K.: The Multidrug Resistance Transporters ABCG2 (Breast Cancer Resistance Protein1) Effluxes Hoechst 33342 and is over-expressed in hematopoietic stem cell. Clin Cancer. Res 2002, 8, 22-28.
- Konig J., Hartel M., Nies A. T., Martignoni M., Guo J., Buchler M. W., Friess H., Keppler D.: Expression and localization of human multidrug resistance protein (ABCC) family members in pancreatic carcinoma. Int. J. Cancer 2005, 115, 359-367.
- Król M., Pawłowski K. M., Majchrzak K., Szyszko K., Motyl T.: Why chemotherapy can fail? Pol. J. Vet. Sci. 2010, 13, 399-406.
- Król M., Pawłowski K. M., Skierski J., Turowski P., Majewska A., Polańska J., Ugorski M., Morty R. E., Motyl T.: Transcriptomic „portraits” of canine mammary cancer cell lines with various phenotypes. J. Appl. Genet. 2010, J 51 (2), 169-183.
- Lee J. J., Hughes C. S., Fine R. L., Page R. L.: P-Glycoprotein expression in canine lymphoma: a relevant, intermediate model of multidrug resistance. Cancer 1996, 77, 1892-1898.
- Lehne G.: P-glycoprotein as a drug target in the treatment of Multidrug Resistance Cancer. Curr. Drug. Targets 2000, 1, 85-99.
- Lenart K., Szyda A., Kielbasiński M., Duś D., Podolak-Dawidziak M.: Kliniczne skutki oporności wielolekowej w nowotworach. Onkologia Prakt. Klin. 2005, 1, 18-26.
- Linardi R. L., Natolini C. C.: Multi-drug resistance (MDR1) gene and P-glycoprotein influence on pharmacokinetic and pharmacodynamic of therapeutic drugs. Cienc. Rural 2006, 36, 336-341.
- Litman T., Druley T., Stein W., Bates S.: From MDR to MXR: new understanding of multidrug resistance systems, their properties and clinical significance. Cell Mol. Life Sci. 2001, 58, 931-959.
- Loe D. W., Almqvist K. C., Deeley R. G., Cole S. P.: Multidrug Resistance Protein (MRP) mediated transport of leukotriene C4 and chemotherapeutic agents in membrane vesicles. J. Biol. Chem. 1996, 271, 9675-9682.
- Lotsh J., Sharke C., Tegeder I., Geisslinger G.: Drug interactions with patient-controlled analgesia. J. Clin. Pharmacol 2002, 41, 31-57.
- Ma L., Pratt S. E., Cao J., Dantzig A. M., Moore R. E., Slapak C. A.: Identification and characterization of the Canine Multidrug Resistance-associated Protein. Mol. Cancer. Ther. 2002, 1, 1335-1342.
- Mao Q., Unadkat J.: Role of Breat Cancer Resistant Protein (ABCG2) in drug transport. AAPS Journal 2005, 7, E118-E133.
- Mioyshi N., Toyo E., Oishi A., Fujiki M., Misumi K., Sakamoto H., Kameyama K., Shimizu T., Yasuda N.: Immunohistochemical detection of P-glyco-

- protein (PGP) and multidrug resistance associated protein (MRP) in canine cutaneous mast cell tumors. *J. Vet. Med. Sci.* 2002, 64, 531-533.
31. *Nooter K.*: The prognostic significance of the multidrug resistance-associated protein (MRP) in primary breast cancer. *Br. J. Cancer* 1997, 76, 486-493.
32. *Nowak M., Madej J. A., Dziegiel P.*: Expression of breast cancer resistance protein (BCRP) in canine mammary adenocarcinomas and adenomas. *In Vivo* 2009, 23, 705-709.
33. *Roulet A., Puel O., Gesta S., Lepage J. F., Drag M., Soll M., Alvinerie M., Pineaut T.*: MDR1 deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *Eur. J. Pharmacol.* 2003, 460, 85-91.
34. *Simon D., Knebel J. W., Baumgartner W., Aufderheide M., Meyer-Lindenberg A., Nolte I.*: In vitro efficacy of chemotherapeutics as determined by 50% inhibitory concentrations in cell cultures of mammary gland tumors obtained from dogs. *Am. J. Vet. Res.* 2001, 62, 1825-1830.
35. *Simon D., Schoenrock D., Baumgartner W., Nolte I.*: Postoperative Adjuvant Treatment of Invasive Malignant Mammary Gland Tumors in Dogs with Doxorubicin and Docetaxel. *J. Vet. Intern. Med.* 2006, 20, 1184-1190.
36. *Sobral R. A., Honda S. T., Katayama M. L. H., Brentan H., Brentani M. M., Patrao D. F. C., Folgueira M. A. A. K.*: Tumor slices as a model to evaluate doxorubicin in vitro treatment and expression of trios of genes PRSS11, MTSS1, CLPTM1 and PRSS11, MTSS1, SMYD2 in canine mammary gland cancer. *Acta. Vet. Scand.* 2008, 50(1), doi: 10.1186/1751-0147-50-27.
37. *Stavrovskaya A. A., Stromskaya T. P.*: Transport Proteins of the ABC Family and Multidrug Resistance of Tumor Cells. *Biochemistry (Moscow)* 2008, 73, 735-750.
38. *Stefkova J., Poledne R., Hubacek A.*: ATP Binding Cassette ABC Transporters in Human Metabolism and Diseases. *Physiol. Res.* 2004, 53, 235-243.
39. *Steinbach D., Wittig S., Cario G., Vichmann S., Mueller A., Gruhn B., Haefer R., Zintl F., Sauerbrey A.*: The multidrug associated protein 3 (MRP3) is associated with a poor outcome in childhood ALL and may account for the worse prognosis in male patient and T-cell immunophenotype. *Blood* 2003, 1202, 4493-4498.
40. *Sun J., He Z. G., Cheng G., Wang S. J., Hao X. M., Zan M. J.*: Multidrug Resistance P-glycoprotein: crucial significance in drug disposition and interaction. *Med. Sci. Monit.* 2004, 10, RA5-14.
41. *Takebayashi Y., Nakayama K., Fujioka T., Kanzaki A., Mutho M., Uchida T., Miyazaki K., Ito M., Fukumoto M.*: Expression of multidrug resistance associated transporters (MDR1, MRP1, LRP and BCRP) in porcine oocyte. *Int. J. Mol. Med.* 2001, 7 (4), 397-400.
42. *Tyden E., Bjornstrom H., Tjalve H., Larsson P.*: Expression and localization of BCRP, MRP1 and MRP2 in intestines, liver and kidney in horse. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2010, 33 (4), 332-340.
43. *Versantvoort C. H. M., Broxterman H. J., Lankelma J., Feller N., Pinedo H. M.*: Competitive inhibition by genistein and ATP dependence of daunorubicin transport in intact MRP overexpressing human small cell lung cancer cells. *Biochem. Pharmacol.* 1994, 48, 1129-1136.

Adres autora: dr Magdalena Król, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; e-mail: magdalena_krol@sggw.pl