

ABC-transportørenes kliniske betydning
MED-3950 5.-årsoppgave – Profesjonsstudiet i medisin
ved Universitetet i Tromsø
Thomas Bremnes MK-08

Veileder:
Professor Dr. med. Georg Sager
Forskningsgruppe for Medisinsk farmakologi og toksikologi
Institutt for Medisinsk biologi
Det medisinske fakultet
Universitetet i Tromsø

03.06.2013 Tromsø

Innholdsfortegnelse

1. Forside.....	1
2. Innholdsfortegnelse.....	2
3. Sammendrag.....	4
4. Introduksjon.....	4
4.1. Hvordan jeg ble interessert i emnet.....	4
4.2. Bakgrunn.....	5
4.3. Mål.....	6
5. Metode.....	7
6. Resultater.....	7
6.1. Søkeresultater.....	7
6.2. Legemiddelresistens fordelt etter virkningsgruppe.....	7
6.2.1. L01B: Antimetabolitter.....	7
6.2.2. L01C: Plantealkaloider.....	7
6.2.3. L01D: Cytotoksiske antibiotika.....	8
6.2.4. L01X: Andre antineoplastiske midler.....	9
6.2.5. M04A: Giktmidler.....	10
6.2.6. Ikke klassifisert.....	10
6.3. Kjemoterapiresistens i biopsier.....	11
6.4. ABC-transportøruttrykk etter kjemoterapibehandling.....	12
6.5. Ikke-ABC-transportørmediert resistens.....	12
6.6. ABC-transportørmodulering.....	13
6.6.1. ABCB1-modulatorer.....	13
6.6.2. ABCC1-modulatorer.....	14
6.6.3. ABCB1 og ABCC1-modulatorer.....	15

6.6.4. ABCG2-modulatorer.....	15
6.6.5. ABCB1, ABCC1 og ABCG2 modulatorer.....	16
6.6.6. Andre kombinasjonsmodulatorer.....	16
6.7. Struktur og bindingsaffinitet av ABC-modulatorer.....	17
6.8. Alternative behandlinger av MDR kreft.....	17
7. Diskusjon.....	17
7.1. Legemidler fordelt etter virkningsgruppe.....	17
7.2. Kjemoterapieresistens i biopsier.....	18
7.3. Forandringer i ABC-transportøruttrykk.....	19
7.4. ABC-transportørmodulering.....	20
7.5. Alternative behandlinger av MDR kreft.....	21
8. Konklusjon.....	21
9. Referanser.....	22

3. Sammendrag

Multi-legemiddelresistens (multidrug resistance, MDR) er resistens mot flere strukturelt uavhengige kjemoterapimidler. Dette er spesielt ett problem for behandling av kreft fordi kreftceller kan danne resistens mot flere midler samtidig. Slik resistens utvikles ved hjelp av flere cellulære mekanismer. Den mest undersøkte og oftest assosierte metoden er via økt uttrykk av ATP-bindende kassett (ATP-binding cassette, ABC)-transportører. Økning av disse transportørene kan medføre økt transmembran efluks av kjemoterapimidler, lavere intracellulær konsentrasjon og fallende cytotoxisitet. Helt siden oppdagelsen av korrelasjon mellom ABC-transportørene og kjemoterapieresistens har det vært forskning på modulatorer som kan reversere resistensen. Denne litteraturstudien undersøker uttrykket av ABC-transportørene i biopsier fra kreftpasienter og in vitro induerte kjemoterapieresistente celler, samt forskningen på modulatorer av transportørene som kan reversere resistensen. Studien påviste signifikant høyere uttrykk av ABC-transportører i blant annet GIST, bløtvevssarkomer, blod-, neurologisk-, lunge og brystkreft, med assosiasjoner til alvorligere histologiske vevstyper og dårligere respons på behandling. De fleste artiklene fant derimot ingen signifikant prognostisk verdi. In vitro induert resistens viste korrelasjon mellom midlene som induerte resistensen og hvilke transportører cellene uttrykte. Flere ABC-transportørmodulatorer har blitt utviklet, men få har vist seg klinisk brukbare for reversering av resistens i kreftpasienter. Noen lovende ABCB1 inhibitorer undergår nå kliniske forsøk, og enkelte har blitt godkjent for svært begrenset terapeutisk bruk. Den manglende effekten kan ha flere årsaker. Uønsket toksisitet og bivirkninger har nylig blitt assosiert med interferens og høygradig blokade av transportørene, og flere artikler har påvist akkumulering av cytostatika i hjernevev.

4. Introduksjon

4.1. Hvordan jeg ble interessert i emnet

Jeg har lenge vært interessert i farmakologi. Med en mor som er provisorfarmasøyt har jeg jobbet mye deltid på apotek under oppveksten. Dette fortsatte jeg med under medisinstudiet. Farmakologi har vært ett av mine favorittemner på studiet, og når vi fikk muligheten til å skrive en oppgave innenfor et valgfritt emne grep jeg sjansen. Jeg har også vært interessert i kreftbehandling, spesielt med tanke på den individuelle behandlingsresponsen. Når jeg var på utplassering på indremedisinsk avdeling ved Sanford Childrens Hospital i Fargo, Nord-Dakota, USA, fikk jeg tilbringe noen uker sammen med Dr. Preston Steen ved hematologisk og onkologisk avdeling. Der fikk jeg se hvordan kreftpasienter responderte på kjemoterapeutisk behandling, og hvor vanskelig det var for pasienter og pårørende når behandlingen sviktet. Både interessen for farmakologi og for den individuelle kjemoterapieresponsen ble kombinert i denne oppgaven om ABC-transportørenes betydning for kjemoterapieresistens.

Veilederen min for 5.årsoppgaven var Professor Dr.med. Georg Sager, Medisinsk farmakologi og toksikologi, Institutt for Medisinsk biologi, Det helsevitenskapelige fakultet.

4.2 Bakgrunn

MDR er definert som resistens mot flere typer kjemoterapeutiske midler med forskjellige virkningsmekanismer og molekylære strukturer (1). Dette representerer ett problem for kjemoterapeutisk behandling fordi kreftceller kan utvikle resistens mot flere midler samtidig, gir dårligere effekt av behandling og dårligere prognose for pasientene. Resistensmekanismer virker grovt sett via 2 forskjellige virkningsveier. Direkte effekter med reduksjon av legemiddelkonsentrasjonen, eller motvirkning av de legemiddelinduserte effektene (2). De direkte effektene inkluderer redusert opptak, redusert intracellulær akkumulering, redusert konvertering av inaktiv metabolitt til aktiv og økt detoksifisering. Motvirkning av effekter inkluderer endring i legemiddelangrepsmål, aktivering av analoge reaksjonsveier, øke DNA reparasjon og øke antiapoptotisk signalering. Redusert intracellulær legemiddelkonsentrasjon er den vanligste årsaken til kjemoterapiresistens, og medieres som regel av ABC-transportører (3).

Juliano RL og Ling V (4) var de første som beskrev en ATP dreven transmembran transportør i MDR celler. De utførte forsøk på Kolkisinresistente ovarieceller fra hamster med bred kryssresistens, og påviste en ny membranstruktur i 1976. De kalte denne transportøren for P-glykoprotein, som siden har fått det systematiske navnet ABCB1. Cole SP et al (5) oppdaget i 1992 et annet resistensprotein forskjellig fra P-glykoprotein. Forskningsgruppen kalte proteinet multi-resistens protein (MRP), som har fått det systematiske navnet ABCC1. Siden den tid har man oppdaget flere beslektede proteiner, og ABC-transportørfamilien utgjør nå 48 individuelle transportører fordelt på 9 grupper ABC-A til ABC-G (6). Slåtve AM (7) ved universitetet i Tromsø, skrev 5.årsoppgave om ABC-transportørene i 2009 med hovedfokus på deres molekylære struktur og fysiologiske funksjon. ABC-transportører eksisterer i de fleste vev og er viktig for beskyttelse av celler mot toksiske substanser. Transportørene virker ved kobling av ATP hydrolyse med transmembran transport av substrater som ikke kan diffundere igjennom cellemembraner, eller som har høyere konsentrasjonsgradient utenfor cellen.

Nyere forskning har vist at Glutationmetabolismen er assosiert med resistens (6). Mekanismer for cellulær detoksifisering av mange skadelige Xenobiotika involverer intracellulær konjugering til Glutation, Glukuronid eller Sulfat (8), og Glutationkonjugerte substanser transporteres ut av celler via ABCC1, ABCC2 og ABCC3 (6). Liu Z et al (9) påviste assosiasjon mellom ABCC2 mediert resistensen og Glutation nivå i Oxaliplatinresistente tykktarmskreftceller, og inhibisjon av Glutation med Buthionine sulphoximine kunne reversere resistensen.

Forskningen på MDR gjøres ved å undersøke proteinuttrykk i vevsprøver fra pasienter med kreft, og ved dannelse av kjemoterapiresistente kreftceller in vitro. MDR uttrykk i pasienter kan korreleres med respons på behandling, videre pasientforløp og overlevelse. Zhou Y et al (10) rapporterer at bruken av etablerte resistente cellelinjer for forskning av resistensmekanismer har vært gjort de siste 20 årene. Etablering av resistente cellelinjer oppnås ved å utsette kreftceller for ett medium med kjemoterapimiddelet som ikke er høyt nok for å drepe alle cellene. Kjemoterapidosering gjøres enten ved stabile høye doser, gradvis økende doser eller pulsative høye doser. Pulsative høye doser skal etterligne den kliniske behandlingen med periodisk kjemoterapi og derfor tenkes å være

mest lik det kliniske bildet. Nåværende teknikker for påvisning av MDR fenotype inkluderer revers transkriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) for påvisning av mRNA uttrykk, Flow Cytometri for påvisning av proteinuttrykk, og Fluorescens akkumulasjon for påvisning av transportøraktivitet og testing for virkning av inhibitorene. I denne litteraturstudien er in vitro induert resistens delt inn etter anatomisk terapeutisk kjemisk (Anatomical Therapeutic Chemical, ATC) klassifikasjonen til midlene som inducerer resistensen (11). ATC registeret er ett system for klassifisering av legemidler, brukt av Norsk Medisinaldepot, Statens legemiddelverk, apotek og helsevesen. Hvert legemiddel deles inn etter hovedvirkningsorgan, terapeutisk undergruppe, farmakologisk undergruppe, kjemisk undergruppe og kjemisk substans.

Tsuruo et al (12) var de første til å oppdage at legemidler kunne ha inhiberende effekt på ABC-transportørene. De viste at Verapamil reverserte resistensen for Vinkristin i P388 leukemiceller ved inhibisjon av ABCB1. Siden har man funnet at en rekke andre stoffer som har modulerende effekter. ABC-modulatorer kan deles i 1.-3. generasjons avhengig av deres virkning og interaksjoner med kjemoterapimidler. Førstegenerasjons modulatorer er substrater av ABCB1, og virker ved å konkurrerende inhibere efluksen av forskjellige kjemoterapimidler (13). Disse modulatorene trenger høye serumkonsentrasjoner og gir derfor ofte bivirkninger og toksiske doser. Andregenerasjons modulatorer har bedre farmakologisk profil. De reverserer MDR in vitro og in vivo, men inhiberer også CYP3A4 som har bred substratoverlapp med blant annet ABCB1 (14). Dette reduserer metabolismen av forskjellige kjemoterapimidler og kan gi uakseptabel toksisitet. Tredjegenerasjons modulatorer er utvunnet ved struktur-aktivitets forhold og kombinasjonskjemisk. De kan potent reversere ABCB1 mediert MDR in vitro og in vivo, og påvirker ikke CYP3A4 signifikant (15).

Kliniske resultater har i midlertidig vært skuffende. Artikler har tidligere ikke vist forbedret behandlingsrespons ved kombinasjonsbehandling (16), men har funnet bivirkninger ved inhibisjon av transportørens fysiologiske funksjonen (17). Det er for øyeblikket mye forskning for å finne nye og mer spesifikke modulatorer av membrantransportørene fordi Inhibitorer av kun en transportør vil gi mindre systematiske bivirkninger. Ofte er disse nye stoffene derivert fra naturlige produkter og stoffer vi får i oss fra kosten (18-26). Over de siste 10 årene har man oppdaget flere nye modulatorer med varierende klinisk effekt.

4.3. Mål

- Utforske fremgangen i forskningen mellom ABC-transportører og kjemoterapiresistens innenfor in vitro induert resistens fordelt etter ATC registeret og fra biopsier fra pasienter med forskjellige krefttyper.
- Gi ett systematisk overblikk over medikamentell modifisering av ABC-transportører, med spesielt fokus på oppdagelse av nye modulatorer over de siste 10 årene.
- Lære hvordan man samler inn og prosesserer informasjon fra vitenskapelige databaser.
- Utvikle kritisk analytisk tilnærming for å lese vitenskapelig litteratur.
- Utvikle egenskaper for å kunne systematisk presentere og diskutere vitenskapelig litteratur.

5. Metode

Jeg har brukt PubMed som database for litteratursøket. Søket mitt bestod av MeSH termene: "drug resistance, multiple", "antineoplastic agent resistance", "multidrug resistance associated protein", "p glycoprotein" og "atp binding cassette transporters"

For å begrense søket mitt valgte jeg kun norske og engelske artikler, originalstudier, ingen review studier, fra de siste 10 årene og omhandlet mennesker, ingen dyrestudier.

Jeg har også funnet frem til originalartikler hvis artiklene i søket mitt krevde det.

6. Resultat

6.1. Søkeresultat

Det litterære søket ga 97 artikler. Jeg leste artiklene og etter diskusjon med veileder eliminerte jeg ikke-relevante artikler. Oppgavens hovedfokus er forskningen på ABC-transportører og kjemoterapiresistens, og moduleringen av disse transportørene for reversering av resistensen. Jeg eliminerte alle "review" artikler som ikke ble eliminert av søket, samt artikler som omhandlet alternative måter å påvise ABC-transportører og resistens, og alternative cellulære forandringer. Endelig artikkelantallet ble 76 artikler.

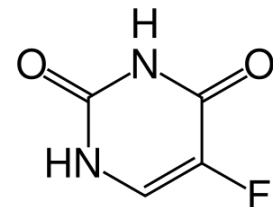
6.2. Legemiddelresistens fordelt etter virkningsgrupper

Midlene som induserer resistens faller i gruppen L01: Antineoplastiske midler, bortsett fra Kolkisin som er i gruppe M04: Giktmidler.

6.2.1. L01B: Antimetabolitter:

C01: Pyrimidanaloger: 5-Fluorouracil

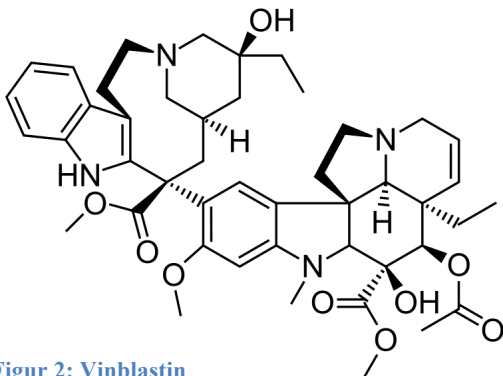
Shi LX et al (27) etablerte 5-Fluorouracilresistent humane hepatocellulærkarsinomceller. Cellene hadde 287 ganger økt resistens, og økt uttrykk av ABCB1 og ABCC1 mRNA.



Figur 1: 5-Fluorouracil

6.2.2. L01C: Plantealkaloider og andre naturprodukter:

A01: Vincaalkaloider og analoger: Vinblastin



Figur 2: Vinblastin

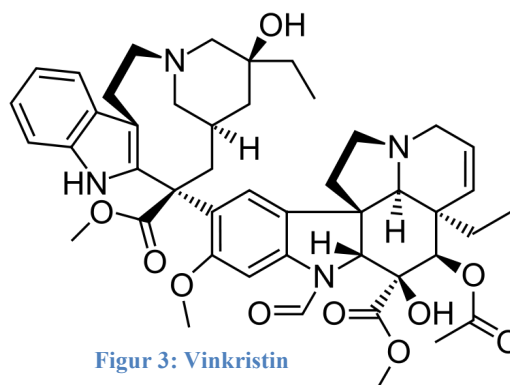
Vinblastinresistente celletyper som leukemiske celler, adenokarsinomer og epidermoidkarsinomer overuttrykte ABCB1 (18,22,28). Labialle S et al (29) etablerte Vinblastinresistente humane choroidale melanomceller og påviste med både mRNA analyse, proteinanalyse og funksjonell analyse, at disse celletypene overuttrykte ABCB1 og ABCC1.

Vinblastinresistente celler viste

varierende kryssresistens for andre kjemoterapimidler som Doxorubicin, Adriamycin (handelsnavn for Doxorubicin) (22,29) og Daunomycin (29). Ved Vinblastin og Kolkisinindusert resistens ble det også påvist kryssresistens for Paclitaxel (18).

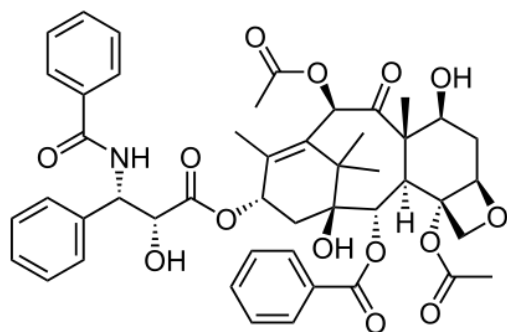
A02: Vincaalkaloider og analoger: Vinkristin

Artikler har vist sammenheng mellom induert Vinkristinresistens og uttrykk av ABCB1 i kronisk myelogen leukemi, promyelocytisk leukemi, ikke-endemisk Burkitts lymfom, oral epidermoidkarsinom og ovariekarsinom (30-32). Buys TP et al (32) påviste at ovariekarsinomceller erstatter ABCC1 og ABCC6 overuttrykk ved begynnende resistens, med ABCB1 overuttrykk når cellene utvikler høyere resistens. Vinkristinresistente celler viste kryssresistens for Doxorubicin og Paclitaxel (31).



Figur 3: Vinkristin

D01: Taksaner: Paclitaxel og Taxol (handelsnavn for Paclitaxel)



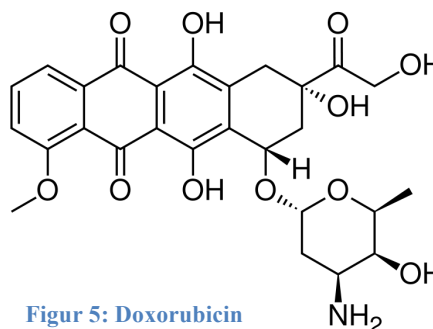
Figur 4: Taxol

Indusert Paclitaxel og Taxolresistens i cervikalkarsinomer og epidermoidceller ga økt uttrykk av ABCB1 (33,34). Li L et al (34) viste at Taxolresistente epidermoidceller hadde kryssresistens for Doxorubicin, Gemcitabin, 5-Fluorouracil og Cisplatin, men Takara K et al (33) viste at Paclitaxelresistente cervikalkarsinomer ikke var resistente mot Platinumderivater.

6.2.3. L01D: Cytotoksiske antibiotika og lignende substanser:

B01: Antracycliner og lignende substanser: Doxorubicin og Adriamycin (handelsnavn for Doxorubicin)

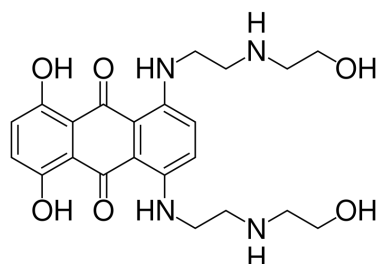
Doxorubicinresistente ikke-småcellet lungekreft, kolorektalkarsinomer og brystkreft overuttrykte ABCB1 (31,35,36), med kryssresistens for Vinkristin og Paclitaxel (31). Sun Z et al (37) undersøkte subkutan Adriamycinresistente leverkarsinomceller, og fant at de viste 140 ganger økt resistens til Adriamycin med 39 ganger økt uttrykk av ABCB1, 21 ganger økt uttrykk av ABCG2, og kryssresistens for Mitomycin C og 5-Fluorouracil. LI G et al (38) viste derimot at slike



Figur 5: Doxorubicin

Adriamycinresistent leverkarsinomceller hadde ikke korrelasjon mellom mRNA-uttrykk og proteinuttrykk. Cellene ble etablert ved gradvis økende Adriamycinkonsentrasjon. De viste 282 ganger økt Adriamycinresistens med 400 ganger økt uttrykk ABCB1 mRNA og 9 ganger økt ABCG2, med lavere økning i proteinuttrykk av ABCB1 og ABCG2, uten forandringer i ABCC1.

B07: Antracycliner og lignende substanser: Mitoxantron



Figur 6: Mitoxantron

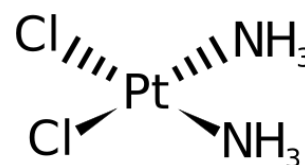
Mitoxantronresistente tykktarmskreftceller viste overuttrykk av ABCG2 og kryssresistens for Topotecan og Doxorubicin (39).

6.2.4. L01X: Andre antineoplastiske midler:

A01: Platinaforbindelser: Cisplatin

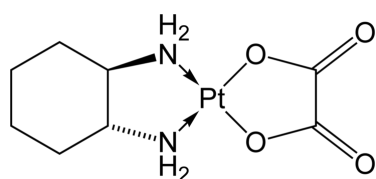
Cisplatinresistente leverkarsinomceller viste varierende overuttrykk av ABC-transportørene. Zhou Y et al (40) fant overuttrykk av ABCB1 og ABCC1 med kryssresistens for Doxorubicin, 5-Fluorouracil og Vinkristin, og Zhou Y et al (9) påviste overuttrykk av ABCB1, ABCC1 og ABCC2.

Wakamatsu T et al (26) fant derimot overuttrykk av ABCC2, ABCC3, ABCC4 og ABCC5 uten forandringer i uttrykket av ABCB1 og ABCC1, og Takara K et al (33) viste at Cisplatinresistente cervikalkarsinomceller hadde redusert uttrykk av ABCB1 mRNA og proteinnivå, med økt sensitivitet for Daunorubicin, Mitomycin C, Bleomycin og Paclitaxel.



Figur 7: Cisplatin

A03: Platinaforbindelser: Oxaliplatin

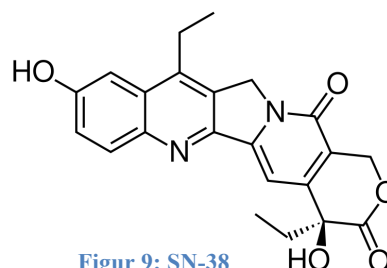


Figur 8: Oxaliplatin

Oxaliplatinresistente tykktarmskreftceller hadde overuttrykk av ABCC2 og viste kryssresistens for 5-Fluorouracil, Etoposid, Cisplatin, Vinkristin og Epirubicin, men var fremdeles sensitiv for Paclitaxel (8). ABCC2-mediert resistens av enkelte legemidler er assosiert med Glutation nivå, og Adriamycin-, Etoposid-, og Cisplatin-resistensen kunne reverseres av Buthionine sulphoximine.

X19: Andre antineoplastiske midler: SN-38 (Irinotekanderivat)

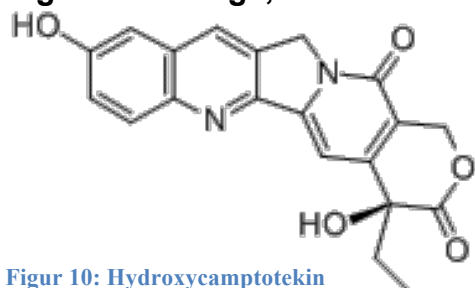
SN-38 resistent human cervikalkarsinomceller viste gradvis økende uttrykk av ABCG2 avhengig av konsentrasjonen av SN-38 som induserte resistensen (41). Ved høyest konsentrasjon observertes også økt uttrykk av ABCC1, ABCC3 og ABCC5. Også påvist



Figur 9: SN-38

kryssresistens for Etoposid, Bleomycin, 5-Fluorouracil ved middels konsentrasjonsresistens av SN-38, og kryssresistens for Irinotekan, Camptothecin, Topotekan, Doxorubicin, Mitoxantron, Cytarabin og Metothrexat ved høyest konsentrasjon-indusert resistens.

X19: Andre antineoplastiske midler: Hydroxycamptotekin (ikke registrert i Norge, beslektet med Irinotekan og Topotekan)



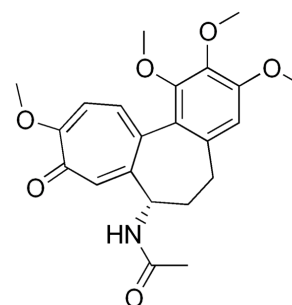
Figur 10: Hydroxycamptotekin

Hydroxycamptothecinresistente kolorektalceller viste inntil 200 ganger økt uttrykk av ABCG2, men ingen signifikante forandringer av ABCB1, ABCC2, ABCC3 eller ABCC6 (42).

6.2.5. M04A: Giktmidler

C01: Preparater uten virkning på urinsyreomsetningen: Kolkisin

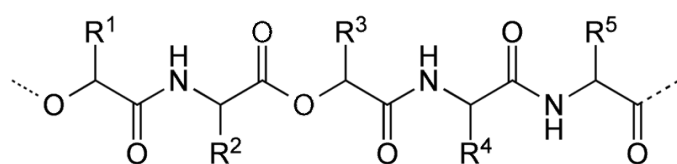
Artikler har funnet at Kolkisinresistente adenokarsinomer og epidermoidkarsinomer overuttrykte ABCB1 og viste kryssresistens for Vinblastin og Paclitaxel (18,28).



Figur 11: Kolkisin

6.2.6. Ikke klassifisert

Depsipeptid, Histon Deacetylaseinhibitor



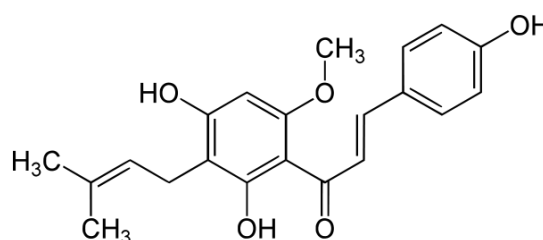
Figur 12: Depsipeptid

Depsipeptidresistente nyrekreftceller viste økt uttrykk av ABCB1 og ABCG2 (43). Cellene var kryssresistente for Doxorubicin, Paclitaxel og Vinblastin, men resistensen

kunne reverseres ved bruk av ABC-transportørinhibitoren Verapamil.

Xanthohumol, Prenylert Calconoid/Flavonoid

Xanthohumolresistente lungekreftceller overuttrykte ABCB1, ABCC1, ABCC2 og ABCC3 (25).



Figur 13: Xanthohumol

6.3 Kjemoterapieresistens i biopsier

Flere artikler har undersøkt uttrykket av ABC-transportørene i biopsier fra pasienter med forskjellige krefttyper, og vurdert korrelasjon med alvorlighet, behandlingsrespons og prognose.

Blodkreft: Chauhan PS et al (44) undersøkte 45 voksne med akutt myelogen leukemi (AML) og 40 med akutt lymfoblastisk leukemi (ALL). De fant signifikant høyere uttrykk av ABCB1 i AML korrelert med dårlig respons på behandling. Plasschaert SL et al (45) viste i en studie av kun lymfoblastisk leukemi, 23 pasienter med B-celle og 23 med T-celle, økt uttrykk av ABCG2 i de resistente cellene, med høyest uttrykk i B-cellene. Drain S et al (46) fant 34 ganger økt uttrykk av ABCB4 ved diagnose av monoklonal gammopati av ubestemt signifikans (MGUS) og 20 ganger økt uttrykk ved diagnose av Plasmacellemyelom (PCM), men lavere nivåer ved relapserende PCM i en studie av 89 pasienter med plasmacelledyscrasier.

Neurologisk kreft: Calatozzolo C et al (47) undersøkte 48 gliombiopsier og 21 primærkulturer av maligne gliomer, og fant økt uttrykk av ABCC1, ABCC3 og ABCC5 påvist både med RT-PCR, flow cytometri og immunohistokjemi. Ved sammenligning med 2 biopsier av normalt hjernevev var det kun uttrykk av ABCC3 som skilte seg fra normalvevet.

Lungekreft: Trussardi-Regnier A et al (48) undersøkte 73 pasienter med småcellet, ikke-småcellet og metastatisk lungekreft. De fant signifikant økt uttrykk av ABCB1 og ABCC1 i de maligne cellene, men kun signifikant høyere uttrykk av ABCC1 innenfor hver subgruppe. Yeh JJ et al (49) viste i en studie av 40 pasienter med småcellet lungekreft at det var signifikant økt uttrykk av ABCB1 og ABCC1 i de med dårlig respons på behandling. Ushijima R et al (50) fant lignende resultater i en studie av 61 pasienter med småcellet lungekreft, hvor ABCB1- og ABCC2-negative grupper hadde signifikant bedre respons på kjemoterapi.

Magesekkreft: Xu HW et al (51) undersøkte 48 pasienter med magesekkreft og fant positiv assosiasjon mellom uttrykk av ABCB1 og ABCC1, og resistens for Adriamycin, Etoposid og Hydroxycamptotekin uten signifikante variasjoner mellom histologiske celletyper. Hu WQ et al (52) fant lignende resultater i en studie av 59 magekreftpasienter, hvor det var ingen korrelasjon mellom ABC-transportørene og differensieringsgrad eller celletype, men trend for korrelasjon mellom ABCB1 og alvorlighetsgrad.

Gastrointestinale stromale tumorer (GIST): Théou N et al (53) undersøkte 21 pasienter med GIST, og fant ABCB1 oftere uttrykt i gastrisk og ABCC1 oftere i ikke-gastrisk. Det var derimot ingen korrelasjon mellom uttrykket av ABCB1, ABCC1 eller co-uttrykk, og prognose.

Brystkreft: Rudas M et al (54) undersøkte biopsier fra brystkreftpasienter. De fant at metastatisk brystkreft oftere hadde forhøyet ABCC1 uttrykk, og påviste at prekjemoterapeutisk ABCC1 uttrykk var signifikant assosiert med progresjonsfri overlevelse.

Bløtvevssarkomer: Komdeur R et al (55) undersøkte 141 kjemoterapi-naive bløtvevssarkom pasienter og fant at Liposarkomer, Maligne fibrøse histocytomer, Rhabdomyosarkomer (RMS) og Synoviale sarkomer hadde høyt uttrykk av ABCB1, mens Leiomyosarkomer hadde lavt uttrykk av ABCB1 og ABCC1. Citti A et al (56) viste at co-uttrykk av ABCB4 og ABCC1 var signifikant høyere i grad III og IV RMS.

6.4. ABC-transportøruttrykk etter kjemoterapibehandling

Kreftceller tilpasser seg resistensutvikling. Takara K et al (41) undersøkte SN-38 resistensutvikling i forhold til dose kjemoterapimiddel som induserte resistens i cervikalkarsinomer. De fant ved økende konsentrasjon var det økende uttrykk av ABCG2, men ved høyest konsentrasjon var det også økt uttrykk av ABCC1, ABCC3 og ABCC5. Buys TP et al (32) viste lignende forandringer i uttrykket av ABC-transportørene under utvikling av Vinkristinresistens. Ovariekarsinomene begynte med overuttrykk av ABCC1 og ABCC6 ved begynnende resistens, men disse ble senere erstattet med overuttrykk av ABCB1 ved høyere resistens. Rudas M et al (54) fant økning av ABCB1 og ABCC1 i pasienter med brystkreft etter kjemoterapi, med økning fra lavt uttrykk til høyere uttrykk i de individuelle cellene. Sun Z et al (37) undersøkte hepatocellulær karsinomprøver etter transarterielt kjemoembolisering (TACE) fra 18 pasienter, hvorav 8 hadde mottatt preoperativ kjemoterapi. Studien viste at ABCB1 mRNA var 14,6 ganger og ABCG2 var 9,3 ganger høyere etter TACE. Citti A et al (56) sammenlignet pre og post-terapeutisk MDR uttrykk i 11 RMS og 4 ikke-RMS, og fant økt uttrykk av ABCB1, ABCB4 og ABCC1, og at ABCB4 og ABCC1 co-uttrykk var signifikant assosiert med mer alvorlig histologisk grad.

6.5. Ikke-ABC-transportørmediert resistens

Andre artikler viste derimot ingen korrelasjon mellom ABC-transportørene og kliniske forhold som behandlingsrespons, prognose, eller relaps.

Blodkreft: Yasunami T et al (57) undersøkte 11 pasienter med akutt T-celle lymfom og fant ingen signifikant uttrykk av ABCB1 eller ABCC1. Hirose M et al (30) viste ingen signifikant sammenheng mellom Vinkristinresistens og uttrykk av ABCB1 i B-type immunoblastisk lymfom A4/Vcr eller T-type kronisk lymfoblastisk leukemi SKW-3/Vcr. Styczynski J et al (58) gjorde en stor studie på prognostisk implikasjon av ABCB1 og ABCC1 i 787 barn med akutt leukemi. De fant sterk trend mot dårligere prognose ved uttrykk av ABCC1, men resultatene var ikke statistisk signifikant. Kun kliniske faktorer hadde klar prognostisk verdi. Olson DP et al (59) utførte en retrospektiv studie av 295 likt behandlet pediatrik ALL, og fant at ABCC1 overuttrykk hadde sterk korrelasjon med leukemisk immunofenotype, men ingen effekt på overlevelse.

Neurologisk kreft: de Cremoux P et al (60) fant i en analyse av 29 pедиatrik pasienter med avansert neuroblastom, at selv om det var høyt uttrykk av ABCB1 var det ingen korrelasjon mellom mRNA nivåer av ABCB1- eller ABCC1-transportørene og terapierespons, relaps eller overlevelse. Bähr O et al (61) viste ved kombinasjonsbehandling av maligne gliomer med Vinkristin og Verapamil, at det også er andre årsaker for kjemoterapieresistensen i gliomene.

Spiserørskreft: Wen J et al (62) etablerte Cisplatinresistente spiserørsplateepitelkarsinom EC109/CDDP celler og viste ingen signifikante forandringer i ABCC1 eller ABCG2 ved RT-PCR. ABCB1 var lavere uttrykk i de resistente cellene.

Gynekologisk kreft: Obata H et al (63) påviste trend for høyere uttrykk av ABC-transportører i grad IV ovariekreft og dårligere respons på behandling, men resultatene var ikke statistisk signifikante. Buys TP et al (32) påviste at Vinkristinresistente ovariekarsinomceller også hadde økt uttrykk av

ekstracellulærmatrix assosierte faktorer som muligens virker synergistisk med ABCB1 amplifikasjon for å gi MDR. Takara K et al (33) viste at Cisplatinresistente cervicalkarsinomer, til motsetning fra Paclitaxelresistente, hadde redusert uttrykk av ABCB1 og økt sensitivitet mot kjemoterapimidlene Daunorubicin, Mitomycin C, Bleomycin og Paclitaxel.

Bløtvevssarkomer: Komdeur R et al (64) undersøkte prøver fra 45 pasienter med nydiagnostisert Rhabdomyosarkom. 29 barn, 16 voksne. Uttrykk av ABCB1 og ABCC1 var jevnt fordelt mellom voksne og barn til tross for dårligere prognose ved stigende alder.

Duan Z et al (65) undersøkte sammenheng mellom forskjellig kjemoterapieresistens og kryssresistens for andre midler og fant.

Cellelinje	Tumor origin	Selekterte legemidler	ET-743 resistens	PM00104 resistens	Paclitaxel resistens	Doxorubicin resistens
U-2OSTR	Bein	Paclitaxel	S	S	R	R
SKOV-3TR	Ovarie	Paclitaxel	S	S	R	R
OVCAR8TR	Ovarie	Paclitaxel	S	S	R	R
MCF-7TR	Bryst	Paclitaxel	S	S	R	R
SW480TR	Tykkarm	Paclitaxel	S	S	R	R
U-2OSDR	Bein	Doxorubicin	R	R	R	R
KHOSDR	Bein	Doxorubicin	R	R	R	R
MESSA/Dx5	Uterus	Doxorubicin	R	R	R	R
MCF-7DR	Bryst	Doxorubicin	R	R	R	R
IGROV1cp	Ovarie	Cisplatin	S	S	S	S
2008cp70	Ovarie	Cisplatin	S	S	S	S
OVCAR5GR	Ovarie	Gemcitabin	S	S	S	S
TC-ET 6nM	Bein	ET-743	R	R	R	R
TC-ET 12nM	Bein	ET-743	R	R	R	R
MCF-7MX	Bryst	Mitoxantron	S	S	S	S

Tabell 1: Kryssresistens. * S står for sensitiv, R står for resistent

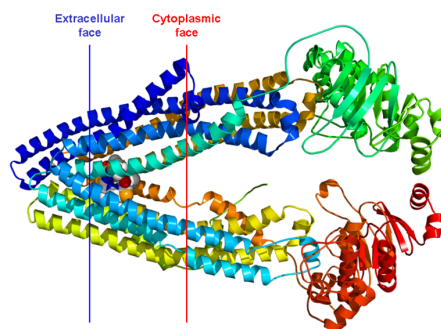
ABCB1 var overuttrykt i alle Doxorubicin og Paclitaxelresistente celler, men kun Doxorubicinresistens ga kryssresistens for ET-743 og PM00104. De viste videre at nedregulering av ABCB1 reverserte resistens mot Doxorubicin og Paclitaxel, men påvirket det ikke resistens for ET-743 eller PM00104.

6.6. ABC-transportørmodulering

Artiklene har vist en rekke nye ABC-transportørmodulatorer de siste 10 årene. Jeg presenterer her en systematisk oversikt over de nye modulatorene fordelt etter ABC-transportørene de virker på.

6.6.1. ABCB1-modulatorer

Direkte inhibisjon: FG020326, ett syntetisert Triaryl-substituert Imidazolderivat, gir inhibisjon av ABCB1-transportørene uten forandringer i genuttrykket (31). Behandling av kjemoterapieresistente celler økte sensitivitet for Doxorubicin, Vinkristin og Paclitaxel, men forandret ikke sensitivitet for ikke-ABCB1-substrater, og hadde ingen virkning på celler som overuttrykte ABCC1, ABCC4 eller ABCG2.



Figur 14: ABCB1-transportøren

Sipholenol A, ett Sipholan Triterpen isolert fra rødehavssvampen *Callyspongia Siphonella*, reverserte ABCB1 mediert legemiddelresistens svakere enn Verapamil (18). Påvirket ikke ABCB1 genuttrykk og hadde ingen effekt på ABCC1 eller ABCG2 overuttrykkende celler.

Machu4, Mama5 og Mama12, Sesquiterpener derivert fra Celastracea planten som har vært brukt i kinesisk folkemedisin i flere århundre, var spesifikke inhibitorer av ABCB1 med 5-9 ganger sterkere inhibisjon enn Verapamil (19). De inhiberte ATPasen, og ga kun veldig svak virkning på ABCC1, ABCC2 og ABCG2.

Saponiner, utvunnet ved bio-guidet fraksjonering av røttene til *Paris Polyphylla* og fraksjonering og purifisering av MeOH derivatene, er sterk hydrofile og gir god ABCB1 inhiberende effekt (20).

Reduserer genuttrykk: β -Elemene, derivert fra den kinesiske medisinske urten *Rhizoma Zedoariae*, reverserer Doxorubicinresistens og gir spesifikk signifikant inhibisjon av ABCB1 ved å redusere genuttrykket, men er mindre potent enn Verapamil (21).

miRNA er en klasse av 22-nukleotid ikke-kodende RNA som virker ved å binde seg til mRNA og fører til degradering og redusert genuttrykk (66). Transfeksjon av miR-138 til HL60/Vcr gir doseavhengig reduksjon i ABCB1 uttrykk, uten forandringer i ABCC familien. Dette reduserer resistensen for Vinkristin og Adriamycin, men også for de ikke-ABCB1 medierte legemidlene 5-Fluorouracil og Cisplatin. Virkningsmekanismen for redusert resistens for ikke-ABCB1 substratene er ikke kjent.

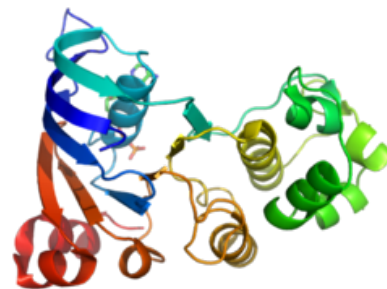
Indol-3-Carbinol er ett Glukosinolat, derivert fra grønnsaker fra korsblomstfamilien som blomkål, hodekål og brokkoli (22). Mennesker har spist disse grønnsakene i flere tusen år uten at det har vært rapporterte toksisitet. Dette middelet reduserer ABCB1 genuttrykk i de ABCB1 overuttrykkende resistente cellene til nesten normalt nivå. Det ble i midlertidig påvist cytotoxiske effekter ved høye konsentrasjoner.

Andre: Fluoxetin har påvist ABCB1 modulerende effekt (36). Kombinasjon med Doxorubicin førte til signifikant reduksjon i resistens, økt intracellulær akkumulering av Doxorubicin, redusert efluks, og signifikant lavere tumorvekst med in vivo effekt tilsvarende aggressiv kjemoterapibehandling. Nøyaktig virkningsmekanisme er ikke kjent.

Sulfinosin, et syntetisk nukleosidanalogue oksidert form av 6-Thioguanosin som metaboliseres til aktiv form i flere metabolske-pathways, viste atypisk ABC-modulerende effekt ved inhibisjon av ABCB1 men stimulasjon av ABCC1 genuttrykk (35). Mer enn 2 ganger så potent som Verapamil, og gir 30% redusert ABCB1 uttrykk, men trolig også en direkte effekt siden denne partielle genuttrykkreduksjonen ikke kan være ansvarlig for den potente reverseringen av ABCB1-assosiert kjemoterapiresistensen.

6.6.2. ABCC1-modulatorer

Det var ingen nye artikler om ABCC1 selektive inhibitorer i artikkelsøket begrenset til de 10 siste årene. Flere stoffer har i midlertidig vist seg å gi kombinert inhibisjon av ABCB1 og ABCC1.



Figur 15: ABCC1-transportøren

6.6.3. ABCB1 og ABCC1-modulatorer

Direkte inhibisjon: Phenothiazinderivater viste ABCB1 og ABCC1 inhiberende effekt, men kun **Thiridazin, Trifluoperazin og Perphenazin** var mer effektive enn Verapamil for inhibisjon av ABCB1, og **Levomepromazin og Trifluoperazin** ga atypisk inhibisjon i lave konsentrasjoner ved å stimulere ABCC1 aktivitet, men inhiberte ved høye konsentrasjoner (67).

Cediranib (Recentin, AZD2171), en småmolekylær multippel reseptor tyrosinkinaseinhibitor, økte cytotoxisiteten til kjemoterapimidler i ABCB1 og ABCC1 overuttrykkende celle, økte intracellulær akkumulering av substratene, men påvirket ikke genuttrykket (68). Cediranib inhiberte ABCB1 ATPasen, og 1,5mikroM inhiberte 20% av ATPase-aktiviteten til 100mikroM Verapamil.

Peptoidene N151212C og N161212C økte intracellulær akkumulering av Rhodamin 123 i ABCB1 overuttrykkende resistente celler og sensitive celler med stabilt uttrykk ABCB1 cDNA (69). Disse stoffene viste sterkere virkning enn Verapamil og også lignende virkning på ABCC1 uten forandringer i ABCB1 eller ABCC1 mRNA.

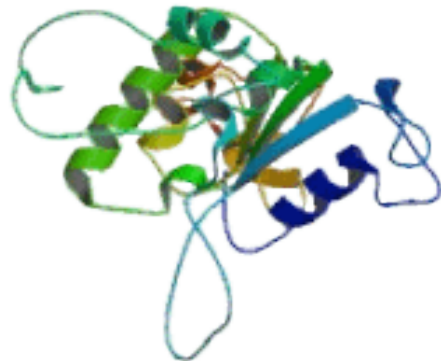
Reduserer genuttrykk: Tiopronin, et thiol-substituert N-propanoylglycinderivat, reduserer ABCB1 transkripsjon med 80% etter 48 timers behandling, gir signifikant reduksjon i ABCB1 og ABCC1 protein uttrykk, og virker cytotoxisk (28).

Indometacin, en NSAID/ikke-selektiv COX inhibitor, og **SC236**, en COX-2-selektiv inhibitor, reduserte det økte uttrykket av ABCB1 og ABCC1 i R-HepG2celler med sammenlignbar effekt som Elacridar (GF-120918, ABCB1 selektiv inhibitor) og Verapamil (70). Økende mengde PGE2 påvirket ikke den økte cytotoxisiteten og dermed er mekanismen mediert uavhengig av COX, og viste selv ingen toksisitet.

Andre: Dibenzocyclooctadien-ligantene: Schisandrin A, Schisandrin B, Schisanterin A, Schisandrol A og Schisandrol B er derivert fra planten *S.Chinensis* som har vært brukt i kinesisk urtemedisineri i flere tusen år uten rapporterte alvorlige bivirkninger eller toksisitet (23). Forskningsgruppen hadde tidligere påvist ABCB1 inhiberende effekt av alle disse midlene, og påviste nå ABCC1 inhiberende effekt. Sun M et al (71) påviste også den kombinerte ABCB1 og ABCC1 inhiberende effekten til **Schisandrin B**, og viste at den utøvde ABCC1 inhibisjon sterkere enn ABCC1 selektiv inhibitor Probenecid, og like sterk ABCB1 inhibisjon som Verapamil.

6.6.4. ABCG2-modulatorer

Sunitinib, tyrosinkinaseinhibitor, virker konkurrerende mot ATP-binding og gir selektiv inhibisjon av ABCG2 uten påvirkning av genuttrykket (39). Øker akkumulering av ABCG2 substratene Rhodamin 123 og Doxorubicin i ABCG2 overuttrykkende celler, og reverserer ABCG2 assosiert kjemoterapiresistens mot Topotecan og Doxorubicin uten cytotoxisitet for normale celler. Etat i det amerikanske Helse- og sosialdepartementet



Figur 16: ABCG2-transportøren

(Food and Drug Administration, FDA) har nylig godkjent Sunitinib for behandling av metastatisk renalcellekarsinom og gastrointestinal stromal tumor i pasienter uten respons for Imatinibbehandling eller som ikke tolererte behandlingen (72).

Harmin, et β -Carbolin alkaloid, viste 2-ganger sterkere ABCG2 inhibisjon enn FTC (en selektiv ABCG2 inhibitor). Ikke cytotoxisk i lave konsentrasjoner, med en IC₅₀ på 40,51mikroM, men β -Carboliner er inhibitorer av monoaminoksidase (MAO) og agonister for Serotoninreseptorer. Disse midlene forsterker derfor Serotonin effekten og gir hallusinasjoner som hyppig bivirkning (73).

6.6.5. ABCB1, ABCC1 og ABCG2 modulatorer

Saquinavir, en HIV proteaseinhibitor, og Nitrogenoksidmodifisert Saquinavirderivat, **Saquinavir-NO (SaqNO)**, er begge substrater for ABCB1 og ABCC1, stimulerer ATPasene, og inhiberer ABCG2 funksjon, men er ikke ABCG2 substrater (74). De har også cytotoxisk aktivitet på kreftcellene utenom aktivitet på ABC-transportørene.

Tetrahydrocurcumin (THC), den endelige metabolitten av Curcuminer, har inhiberende effekt på ABCB1, ABCC1 og ABCG2 aktivitet, reduserer efluks og øker intracellulær akkumulering av deres respektive substrater (75). Den stimulerer ABCB1 og ABCG2 ATPasene, og inhiberer fotolabeling av ABCB1 og ABCG2. Forskningsgruppen hadde tidligere undersøkt effekten av Curcumin I og II, og viste at parentalstoffet Curcumin I var mer potent enn THC. Midlet har svært lav cytotoxiskitet og ikke-cytotoxiske konsentrasjoner kan potent inhibere ABC-transportørene og reversere kjemoterapiresistensen.

Piperon er et Piperidin alkaloid, hovedalkaloiden i Piper Nigrum (svart pepper) (24). Ved langtidsbehandling reduserer det genuttrykket av ABCB1, ABCC1 og ABCG2, og gir sterkere inhibisjon av ABCB1 enn Verapamil, sterkere inhibisjon av ABCC1 enn ABCC1 selektiv inhibitor MK-571, men er mindre potent for reduksjon av ABCG2 aktivitet enn ABCG2 selektiv inhibitor FTC.

6.6.6. Andre kombinasjonsmodulatorer

Xanthohumol, et prenylatert Chalcon funnet i hopper (*Humulus lupulus* L., Cannabaceae) reduserer genuttrykket til ABCB1, ABCC1, ABCC2 og ABCC3, og gir sterk inhibisjon av topoisomerase I og dermed inhibisjon av frigjøring av supercoiled DNA og redusert DNA replikasjon (25). Midlet er cytotoxisk med IC₅₀ på 3,6-5,7mikrog/ml mediert av topoisomeraseinhibisjon.

Glycyrrhizin, et naturprodukt brukt mot leversykdom i Japan for anti-inflammatorisk effekt, og **Lamivudin**, middel brukt i behandling av HBV, økte begge den cytotoxiske effekten av Cisplatin i ABCC2, ABCC3, ABCC4 og ABCC5 overuttrykkende celler (26). Kombinasjon av disse midlene ga additiv effekt, men virkningsmekanismen er ikke kjent.

Tyroservatid, et aktivt lavmolekylært polypeptid, reverserer legemiddelresistens til Doxorubicin og ikke-ABCB1 substratet 5-Fluorouracil i ikke-cytotoxisk dose 0,4mg/mL med 61,22% og 62,36%, og mildt cytotoxisk dose 0,8mg/mL med 82,32% og 78,12% (27). Det reduserer genuttrykket av ABCB1 mRNA uten signifikante forandringer i ABCC1.

6.7. Struktur og bindingsaffinitet av ABC-modulatorer

Flere artikler har vist at effekten av ABC-modulatorer er sterkt avhengig av deres molekylære struktur. Ojima I et al (76) viste ved syntetisering av Taxanbaserte MDR inhibitorer og forandringer i molekylærstrukturen at økende hydrofilitet reduserte effekten, og addisjon av små hydrofobe sidekjerder i spesifikke lokalisasjoner ga økt effekt. Coburger C et al (77) syntetiserte en serie cage dimerisk 1,4-dihydropyridiner og viste med punktforandringer i molekylærstruktur at økende lipofilitet ga økende effekt, men varierende biologisk aktivitet avhengig av plasseringen av de lipofile gruppene. Chan KF et al (78) syntetiserte en serie Flavonoiddimerer og med punktvis strukturelle forandringer viste at introduksjon av små hydrofobe grupper i en del av strukturen som C5 og C6 i ring A, økte potensen, mens introduksjon av disse gruppene andre steder, som i ring B eller C, reduserte potensen og kunne fjerne aktiviteten helt. Goldsborough AS et al (28) undersøkte punktforandringer i molekylærstrukturen til Tiopronin, og fant man at utbytte av thiolgruppen ga fullstendig tap av funksjon, men andre substanser med thiolgrupper ikke nødvendigvis ga samme effekt som Tiopronin. Også N-(3-Mercapto-2-methylpropanoyl)glysin, som kun varierte fra Tipronin med en mer CH₂-gruppe i kobling mellom tiolgruppe og hovedstrukturen, hadde ingen effekt på ABC-transportørmodulering.

6.8. Alternative behandlinger av MDR kreft

Det har vært en del forskning på alternative behandlinger av MDR kreft over de siste 10 årene. Disse artiklene inkluderer studier om alternative måter å administrere kjemoterapimidlene som PoLigel, en gel som gis intraperitonealt for høyere absorpsjon og mer stabil sirkulerende konsentrasjon, alternative behandlingsformer som hypertermi, ultralyd, bestråling, toksiske midler derivert fra planteprodukter/naturmedisin, og alternativ bruk av eksisterende stoffer/behandlinger som Arsenikk, topoisomeraseinhibitorer og monoklonal antistoffterapi (79-91).

7. Diskusjon

7.1. Legemidler fordelt etter virkningsgruppe

23 artikler fra litteratursøket omhandlet kjemoterapiindusert MDR (9,18,22,25-43,62). Ved å fordele legemiddelresistens etter virkningsgruppene til legemidlene som induserte resistensen fant vi:

Pyrimidanalogs:	5-Fluorouracil: økt ABCB1 og ABCC1 (27).
Vincaalkaloider:	Vinblastin: økt ABCB1 (18,22,28,29), ABCC1 (29) Vinkristin: økt ABCB1 (30-32), ingen ABCB1 (30)
Taksaner:	Paclitaxel: økt ABCB1 (33,34)
Antracycliner:	Doxorubicin: økt ABCB1 (31,35-38), ABCG2 (37,38), Mitoxantron: økt ABCG2 (39).
Platinaforbind.:	Cisplatin: økt ABCB1 og ABCC1 (9,40), ABCC2 (9,26), ABCC3, ABCC4 og ABCC5 (26), redusert ABCB1 (33,62) Oxaliplatin: økt ABCC2 (8)
Andre antineo.:	SN-38: økt ABCG2, ABCC1, ABCC3 og ABCC5 (41)

Hydroxycamptotekin: økt ABCG2 (42)
Prep.u.virk.urins.: Kolkisin: økt ABCB1 (18,28).
Ikke-klassifiserte: Depsipeptid: økt ABCB1 og ABCG2 (43)
Xanthohumol: økt ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC3 (25)

Tidligere studier (92-94) har undersøkt transport av kjemoterapimidler av ABC-transportører, og kom frem til:

Anthracycliner transporteres av ABCB1, ABCC1-2, ABCG2

Vinca alkaloider av ABCB1, ABCC1-2

Epipodophyllotoxiner av ABCB1, ABCC1-3

Camptothecin av ABCG2

Mitoxantron av ABCB1, ABCC1-2, ABCG2

Cisplatin av ABCC2

Methotrexat av ABCC1-4

Purinanalog 6-mercaptopurin og thioguanin av ABCC4-5

Artiklene fra litteratursøket undersøkte ikke Epipodophyllotoxin-, Methotrexat-, 6-Mercaptopurin-, eller Thioguaninindusert kjemoterapiresistens. Enkelte kjemoterapimidler har ikke vist økt uttrykk av alle transportørene, mens andre har fått påvist flere. Enkelte studier av Cisplatinindusert resistens viste redusert uttrykk av ABCB1 (33,62). De fleste studiene viser økning i de samme ABC-transportørene avhengig av kjemoterapimiddelet som induserte resistensen, og sammenhengen med hvilke transportører midlene transporteres av, stemmer i grove trekk. Dette er i motsetning til funnene av Duan Z et al (65) som påviste sterk korrelasjon mellom middelet som induserte resistensen og kryssresistensen, uavhengig av uttrykk av ABC-transportører og histologisk vev.

Artiklene fra litteratursøket viste også en bred kryssresistens mot andre ikke-relaterte kjemoterapimidler. Det var klare mønster i kryssresistensen slik som Vincaalkaloider viste kryssresistens mot Antracycliner og Taksaner (18,29,31), Antracycliner viste kryssresistens mot Vincaalkaloider, Pyrimidanaloger og Taksaner (31,37), og Taksaner viste kryssresistens mot Antracycliner og Pyrimidanaloger (33,34). En studie viste også at Taksaner hadde kryssresistens for Platinumforbindelser (34), mens studier om Platinumforbindelser fant kryssresistens mot Antracycliner, Pyrimidanaloger, Podofyllotoksinderivater og Vincaalkaloider (8,40). Det er store molekylære forskjeller mellom små strukturer slik som Platinumforbindelser og Pyrimidanaloger, og de større forbindelsene som Vincaalkaloider. Dette bekrefter at kreftcellene har utviklet MDR.

7.2. Kjemoterapiresistens i biopsier

ABC-transportørene spiller en viktig rolle for klinisk kjemoterapiresistens i en rekke krefttyper. Studier har påvist signifikant høyere uttrykk av ABC-transportører i blant annet GIST, bløtvevssarkomer, blod-, neuologisk-, lunge- og brystkreft (44-48,53-55,59,60). Men ikke alle kreftformene viste enstydige økninger i uttrykket av transportørene. Selv om maligne gliomer viste økt uttrykk av ABCB1, ABCC3 og ABCC5 (47), sammenlignet studien uttrykket med 2 biopsier av normalt hjernevev og fant at kun det økte uttrykket av ABCC3 var abnormalt. Det er vanskelig å få

signifikant mengde normale kontroller for hjernebiopsier siden svært få gjøres. Kool et al (95) identifiserte høye nivåer ABCC5 mRNA, lave nivåer ABCC1 mRNA, og fravær av ABCC3 mRNA i normal hjerne, mens Hirrlinger et al (96) påviste ABCC3 uttrykk i astroglia og microglia i rotter. Andre har vist ved kombinasjonsbehandling av maligne gliomer med Vinkristin og Verapamil, at det også er andre årsaker til resistensen uavhengig av ABC-transportørene (61). Studier av leiomyosarkomer og akutte T-celle lymfomer har derimot ikke vist forandringer i uttrykket av ABC-transportører (55,57).

Uttrykket av ABC-transportørene har blitt assosiert med mer alvorlige kreftformer. En studie av bløtvevssarkomene viste signifikant høyere co-uttrykk av ABCB1 og ABCC1 i de mer alvorlige histologiske gradene (55). Dette ble bekreftet av Citti A et al (56) som fant lignende resultater med signifikant høyere co-uttrykk av ABCB4 og ABCC1 i grad III og IV Rhabdomyosarkomer. Og mens både Hu WQ et al og Xu HW et al påviste ingen korrelasjon mellom ABC-transportører, og histologiske celletyper eller differensieringsgrad (37,52), fant Hu WQ et al trend mellom ABCB1 og alvorlighetsgrad i magesekkreft (52).

Enkelte studier har også vist korrelasjon mellom uttrykket av transportørene og respons på behandling. Økt ABCB1 i AML, økt ABCC1 i ALL og økt ABCB1, ABCC1 og ABCC2 i lungekreft har alle blitt assosiert med dårlig respons på behandling (44,49,50). Obata H et al (63) viste sammenheng mellom høyere uttrykk av ABC-transportører i grad IV ovariekreft og lavere respons til kjemoterapi, men resultatene var ikke statistisk signifikante. I en studie av plasmacelledyskrasier ble det funnet lavere uttrykk av ABCB4 i relapserende plasmacellemyelom (46). Dette kan indikere at ABCB4 kun spiller rolle for initial kjemoterapieresistens, og ved relaps utvikler cellene andre resistensmekanismer.

De fleste studiene har ikke klart å vise betydning av ABC-transportørene for prognosen og overlevelsen av pasienter. Olson DP et al (59) utførte en stor retrospektiv studie av 295 likt behandlet pediatrik ALL og fant at uttrykket av ABCC1 hadde ingen effekt på overlevelse. Andre studier har vist ingen korrelasjon mellom ABCB1, ABCC1, eller co-uttrykk og prognose i avanserte neuroblastomer, GIST eller Rhabdomyosarkomer (53,60,64). Studien av pediatriske pasienter med avansert neuroblastom var begrenset av at barna mottok forskjellige behandlingsregimer og derfor ikke nødvendigvis var sammenlignbare (60). Styczynski J et al (58) fant trend for dårlig prognose ved uttrykk av ABCC1 i stor studie med 787 barn med akutt leukemi, og Rudas M et al (54) viste signifikant assosiasjon mellom prekjemoterapeutisk ABCC1 uttrykk og progresjonsfri overlevelse i metastatisk brystkreft.

Flere studier har vært begrenset av at de kun undersøkte nivå av ABC-transportørene med en modalitet (49,50,52-56,64). Multisenteranalyse har vist at immunologisk metode for ABCB1 påvisning ikke er sensitiv nok som diagnostisk verktøy for påvisning av MDR i solide svulster, og at man må kombinere modaliteter for å få høyere nøyaktighet (97).

7.3. Forandringer i ABC-transportøruttrykk

Kreftceller forandrer ABC-transportøruttrykk under resistensutvikling. Takara K et al (41) fant at økende konsentrasjon av SN-38 som induserte resistens ga økende uttrykk av ABCG2, men ved høyest konsentrasjon var

det også økt uttrykk av ABCC1, ABCC3 og ABCC5. Lignende forandringer ble funnet av Buys TP et al (32) som viste at under utvikling av Vinkristinresistens vil ovariekarsinomene begynne med overuttrykk av ABCC1 og ABCC6 som senere ble erstattet av overuttrykk av ABCB1 ved høyere resistens. Andre studier har vist økning i uttrykk av ABC-transportører etter kjemoterapeutisk behandling. Rudas M et al (54) fant økning av ABCB1 og ABCC1 i pasienter med brystkreft etter kjemoterapi, med økning også i de individuelle cellene. Dette har senere blitt påvist i andre krefttyper, som økt ABCB1 og ABCG2 hepatocellulært karsinom etter transarteriell kjemoembolisering (37), og økt ABCB1, ABCB4 og ABCC1 i Rhabdomyosarkom og ikke-Rhabdomyosarkom etter kjemoterapeutisk behandling (56). Disse funnene indikerer at kreftcellene kan danne kjemoterapieresistens etter de har blitt behandlet og forandre resistensuttrykk under behandlingen. Det kan derfor være viktig å følge pasienter over tid for forandringer i uttrykk av ABC-transportører og tilpassing av behandling.

7.4. ABC-transportørmodulering

Artikler har vist en rekke nye ABC-transportørmodulatorer de siste 10 årene. Det har vært påvist både selektive (18-22,31,35,36,39,66,73) og bredspektret (23-28,67-71,74,75) inhibitorer som hovedsakelig virker ved direkte inhibisjon (18-20,31,39,67-69,73-75) eller forandringer av genuttrykket (21,22,24,25,27,28,66,70) av ABC-transportørene og dermed reversering av kjemoterapieresistensen. Midlene har varierende potens. Mens enkelte virket svakere enn førstegenerasjonsinhibitorer (18,21), som Verapamil, viste de fleste sterkere virkning (19,24,35,67,69,71,73). Det var ingen nye artikler om ABCC1 selektive inhibitorer i det begrensede artikkelsøket mitt i løpet av de siste 10 årene. Det har vært vanskeligere å utvikle selektive ABCC1 inhibitorer fordi det er en anionisk pumpe med bred substratspesifisitet og medierer en viktig del av kroppens naturlige regulering av endogene og eksogene stoffer (98). Flere stoffer har i midlertidig vist seg å gi kombinert inhibisjon av ABCB1 og ABCC1.

Mange av de nye ABC-transportørmodulatorene er derivert fra planteprodukter (15-23). Dette er gjort med tanke på at disse produktene har vært inntatt av mennesker i århundre uten alvorlige toksiske effekter og derfor lavere sjanse for toksisitet av derivatene.

Effekten av ABC-modulatorer er sterkt avhengig av deres molekylære struktur. Ojima I et al (76), Coburger C et al (77) og Chan KF et al (78) viste at addisjon av små hydrofobe grupper på spesifikke lokalisasjoner i molekylærstrukturen økte effekten til modulatorene. Men addisjon av disse gruppene andre steder i strukturen kunne reduserte potensen eller fjerne aktiviteten helt. Goldsborough AS et al (28) fant at selv N-(3-Mercapto-2-methylpropanoyl)glysin, som kun varierte fra Tipronin med en mer CH₂-gruppe i kobling mellom tiolgruppe og hovedstrukturen, mistet modulerende effekt. Ved å gjøre forsøk med enkeltpunktsforandringer i molekylærstrukturen, kunne de finne stoffene som hadde optimal bindingsaffinitet og virkning på ABC-transportørene. Andre studier har derimot vist videreforedlete stoffer har lavere affinitet for ABC-transportørene. THC viste lavere inhiberende effekt på ABCB1, ABCC1 og ABCG2 enn dens parentalstoff Curcumin I, og Harmalin, en mer lipofil form av Harmin, hadde også redusert effekt (73,75).

Flere stoffer som modulerer ABC-transportmediert MDR har blitt utviklet, men få har vist seg klinisk brukbare for reversering av legemiddelresistens i kreftpasienter (99). Noen lovende ABCB1 inhibitorer er nå i kliniske forsøk, slik som Elacridar (GF120918) (100), Zosuquidar (LY335979) (101), og Tariquidar (XR9576) (102), og FDA har nylig godkjent Sunitinib for behandling av metastatisk renalcellekarsinom og gastrointestinal stromal tumor i pasienter uten respons for Imatinibbehandling eller som ikke tolererte den behandlingen (72).

Den manglende effekten av modulatorene kan være forårsaket av lav bindingsaffinitet, uforutsigbar farmakokinetiske interaksjoner, inhibering av metabolisme, ekspulsjon av kjemoterapimidler og alvorlige bivirkninger i normalt vev (103). Harmin, en MAO-inhibitor, gir hallusinasjoner som hyppig bivirkning. Uønsket toksisitet og bivirkninger har nylig blitt assosiert med interferens og høygradig blokade av transportørene. Komplette farmakologiske knockout av ABCB1 i mus ga økt akkumulering av cytostatika i sensitive vev som hjerne (104,105). Cerebrale endoteliale celler uttrykker ABCB1, ABCC1, ABCC2 og ABCC4 mRNA, og eksponering av cellene for Verapamil forsterket cytotoxiske effekter av Vinkristin, Doxorubicin og Teniposid signifikant i disse ikke-kreft cerebrale endoteliale cellene (61). Hoffmeyer S et al (106) bekreftet dette med forsøk på ABCB1 knockout mus og fant at eksponering av gliompatienter til ABCB1/ABCC1 modulatorer kan forsterke legemiddelleveranse til kreftfrie hjerne og gi økt konsentrasjon og problemer med neurotoksisitet.

7.5. Alternative behandlinger av MDR kreft

Det er en del forskning på alternative behandlinger av kreft som viser resistens assosiert med MDR som har vist klinisk effekt (79-91). Flere av disse studiene har vist lovende resultater og kan være mulige behandlingsmodaliteter i fremtiden, men dette faller utenfor hovedfokuset av denne oppgaven og vil derfor ikke fordypes.

8. Konklusjon

Artiklene i dette begrensede litteratursøket, viser sammenheng mellom legemiddelgruppene som induserer kjemoterapiresistens og hvilke ABC-transportører cellene uttrykker. Legemiddelgruppen som induserte resistens korrelerte også med kryssresistens for andre kjemoterapimidler. Prøver fra kreftpasienter påviste signifikant høyere uttrykk av ABC-transportører i en rekke krefttyper. Flere studier fant også sammenheng med alvorligere histologisk vevstype og dårligere respons på behandling, men de fleste studier fant ingen signifikant prognostisk verdi.

Over de siste 10 årene har det blitt utviklet mange modulatorer med varierende bindingsaffinitet og virkning. Tidligere har få modulatorer vist seg å gi klinisk brukbar reversering av resistens og flere har gitt uakseptabel toksisitet. Flere nye stoffer utvinnes nå fra naturprodukter og matvarer med tanke på at mennesker har inntatt dette i lang tid uten kjente toksiske effekter. Nye stoffer testes med punktforandringer i molekylærstrukturen for å lære mer om struktur-affinitet for ABC-transportørene, og finne de optimale modulatorene. Dette har påvist sterk strukturavhengig bindingsaffinitet. Noen

lovende ABCB1 inhibitorer er nå i kliniske forsøk, og enkelte stoffer har blitt godkjent for svært begrenset terapeutisk bruk. Foreløpige resultater virker lovende.

Den komplekse sammenhengen mellom ABC-transportørene og kjemoterapieresistens er fremdeles ikke fullstendig kjent. Kun en liten del av blidet er belyst, og mer forskning trengs for å kunne kartlegge denne sammenhengen. Mens få modulatorer har vist klinisk effekt så langt, utvikles det nye hele tiden nye stoffer og det vil bli spennende å følge med på fremtidige resultater.

9. Referanser:

Figur 1: 5-Fluorouracil, hentet fra <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Fluorouracil.svg>

Figur 2: Vinblastin, hentet fra <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Vinblastine.svg>

Figur 3: Vinkristin, hentet fra <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Vincristine.svg>

Figur 4: Taxol, hentet fra <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Taxol.svg>

Figur 5: Doxorubicin, hentet fra <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Doxorubicin.svg>

Figur 6: Mitoxantron, hentet fra <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Mitoxantrone.svg>

Figur 7: Cisplatin, hentet fra <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Cisplatin.svg>

Figur 8: Oxaliplatin, hentet fra <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Oxaliplatin.svg>

Figur 9: SN-38, hentet fra <http://en.wikipedia.org/wiki/File:SN-38.svg>

Figur 10: Hydroxycamptotekin, hentet fra http://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB4445430_EN.htm

Figur 11: Kolkisin, hentet fra http://en.wikipedia.org/wiki/File:Colchicine_structure.png

Figur 12: Depsipeptid, hentet fra http://en.wikipedia.org/wiki/File:Depsipeptide_Principle_V.1.png

Figur 13: Xanthohumol, hentet fra <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Xanthohumol.svg>

Figur 14: ABCB1-transportøren, hentet fra http://en.wikipedia.org/wiki/File:MDR3_3g5u.png

Figur 15: ABCC1-transportøren, hentet fra http://en.wikipedia.org/wiki/File:Protein_ABCC1_PDB_2cbz.png

Figur 16: ABCG2-transportøren, hentet fra [http://www.uscnk.com/directory/ATP-binding-cassette-transporter-G2\(ABC-G2-CDw338\)-0960.htm](http://www.uscnk.com/directory/ATP-binding-cassette-transporter-G2(ABC-G2-CDw338)-0960.htm)

Tabell 1: Kryssresistens, hentet fra 65. Duan Z, Choy E, Jimeno JM, Cuevas Cdel M, Mankin HJ, Hornicek FJ. Diverse cross-resistance phenotype to ET-743 and PM00104 in multi-drug resistant cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2009 May;63(6):1121-9.

1. Takara K, Sakaeda T, Okumura K. An update on overcoming MDR1-mediated multidrug resistance in cancer. *Curr Pharm Des.* 2006;12(3):273-86.

2. Yasui K, Mihara S, Zhao C, Okamoto H, Saito-Ohara F, Tomida A, et al. Alteration in copy numbers of genes as a mechanism for acquired drug resistance. *Cancer Res.* 2004 Feb 15;64(4):1403-10.

3. 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 Jul;7(7):893-909.

4. Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta*. 1976 Nov 11;455(1):152-62.
5. Cole SP, Bhardwaj G, Gerlach JH, Mackie JE, Grant CE, Almquist KC, et al. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science*. 1992 Dec 4;258(5088):1650-4.
6. Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J Lipid Res*. 2001 Jul;42(7):1007-17.
7. Slåttsve AM. ABC-transportører. Universitetet i Tromsø; University of Tromsø. 2009 Sep 15;1-35. Tilgjengelig fra <http://hdl.handle.net/10037/2261>
8. Guengerich FP. Metabolism of chemical carcinogens. *Carcinogenesis*. 2000 Mar;21(3):345-51.
9. Liu Z, Qiu M, Tang QL, Liu M, Lang N, Bi F. Establishment and biological characteristics of oxaliplatin-resistant human colon cancer cell lines. *Chin J Cancer*. 2010 Jul;29(7): 661-7.
10. Zhou Y, Ling XL. Establishment of a cisplatin-induced multidrug resistance cell line SK-Hep1/DDP. *Chin J Cancer*. 2010 Feb;29(2):167-71.
11. Anatomisk terapeutisk kjemisk register [Internet]. Oslo: Foreningen for utgivelse av Norsk legemiddelhandbok. Publisert: 20.06.2010. Tilgjengelig fra <http://legemiddelhandboka.no/Atc-reg/162305>
12. Tsuruo, T, Iida, H, Tsukagoshi, S, Sakurai, Y. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. *Cancer Res*. 1981 May;41(5):1967-72.
13. Lozzio CB, Lozzio BB. Human chronic myelogenous leukemia cell line with positive Philadelphia chromosome. *Blood*. 1975 Mar;45(3):321-34.
14. Collins SJ, Gallo RC, Gallagher RE. Continuous growth and differentiation of human myeloid leukemia cells in suspension culture. *Nature*. 1977 Nov 24;270(5635):347-9.
15. Hirose M, Takeda E, Ninomiya T, Kuroda Y, Miyao M. Synergistic inhibitory effects of dipyridamole and vincristine on the growth of human leukemia and lymphoma cell lines. *Brit J Cancer*. 1987 Oct;56(4):413-7.
16. Lai EC, Choi TK, Cheng CH, Mok FP, Fan ST, Tan ES, et al. Doxorubicin for unresectable hepatocellular carcinoma. A prospective study on the addition of verapamil. *Cancer*. 1990 Oct 15;66(8):1685-7.
17. Sheps JA, Ling V. Preface: the concept and consequences of multidrug resistance. *Pflugers Arch*. 2007 Feb;453(5):545-53.
18. Shi Z, Jain S, Kim IW, Peng XX, Abraham I, Youssef DT, et al. Siphonolol A, a marine-derived siphonane triterpene, potently reverses P-glycoprotein (ABCB1)-mediated multidrug resistance in cancer cells. *Cancer Sci*. 2007 Sep;98(9):1373-80.
19. Muñoz-Martínez F, Lu P, Cortés-Selva F, Pérez-Victoria JM, Jiménez IA, Ravelo AG, et al. Celastraceae sesquiterpenes as a new class of modulators that bind specifically to human P-glycoprotein and reverse cellular multidrug resistance. *Cancer Res*. 2004 Oct 1;64(19):7130-8.
20. Nguyen VT, Darbour N, Bayet C, Doreau A, Raad I, Phung BH, et al. Selective modulation of P-glycoprotein activity by steroidal saponines from *Paris polyphylla*. *Fitoterapia*. 2009 Jan;80(1):39-42.
21. Xu HB, Li L, Fu J, Mao XP, Xu LZ. Reversion of multidrug resistance in a chemoresistant human breast cancer cell line by β -elemene. *Pharmacology*. 2012;89(5-6):303-12.
22. Arora A, Seth K, Kalra N, Shukla Y. Modulation of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in K562 leukemic cells by indole-3-carbinol. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005 Feb 1;202(3):237-43.
23. Li L, Pan Q, Sun M, Lu Q, Hu X. Dibenzocyclooctadiene lignans: a class of novel inhibitors of multidrug resistance-associated protein 1. *Life Sci*. 2007 Jan 30;80(8):741-8.

24. Li S, Lei Y, Jia Y, Li N, Wink M, Ma Y. Piperine, a piperidine alkaloid from *Piper nigrum* re-sensitizes P-gp, MRP1 and BCRP dependent multidrug resistant cancer cells. *Phytomedicine*. 2011 Dec 15;19(1):83-7.
25. Lee SH, Kim HJ, Lee JS, Lee IS, Kang BY. Inhibition of topoisomerase I activity and efflux drug transporters' expression by xanthohumol. from hops. *Arch Pharm Res*. 2007 Nov;30(11):1435-9.
26. Wakamatsu T, Nakahashi Y, Hachimine D, Seki T, Okazaki K. The combination of glycyrrhizin and lamivudine can reverse the cisplatin resistance in hepatocellular carcinoma cells through inhibition of multidrug resistance-associated proteins. *Int J Oncol*. 2007 Dec;31(6):1465-72.
27. Shi LX, Ma R, Lu R, Xu Q, Zhu ZF, Wang L, et al. Reversal effect of tyroservatide (YSV) tripeptide on multi-drug resistance in resistant human hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402/5-FU. *Cancer Lett*. 2008 Sep 28;269(1):101-10.
28. Goldsborough AS, Handley MD, Dulcey AE, Pluchino KM, Kannan P, Brimacombe KR, et al. Collateral sensitivity of multidrug-resistant cells to the orphan drug tiopronin. *J Med Chem*. 2011 Jul 28;54(14):4987-97.
29. Labialle S, Dayan G, Gambrelle J, Gayet L, Barakat S, Devouassoux-Shisheboran M, et al. Characterization of the typical multidrug resistance profile in human uveal melanoma cell lines and in mouse liver metastasis derivatives. *Melanoma Res*. 2005 Aug;15(4):257-66.
30. Hirose M. The process behind the expression of mdr-1/P-gp and mrp/MRP in human leukemia/lymphoma. *Anticancer Res*. 2009 Apr;29(4):1073-7.
31. Dai CL, Liang YJ, Chen LM, Zhang X, Deng WJ, Su XD, et al. Sensitization of ABCB1 overexpressing cells to chemotherapeutic agents by FG020326 via binding to ABCB1 and inhibiting its function. *Biochem Pharmacol*. 2009 Aug 15;78(4):355-64.
32. Buys TP, Chari R, Lee EH, Zhang M, MacAulay C, Lam S, et al. Genetic changes in the evolution of multidrug resistance for cultured human ovarian cancer cells. *Genes Chromosomes Cancer*. 2007 Dec;46(12):1069-79.
33. Takara K, Obata Y, Yoshikawa E, Kitada N, Sakaeda T, Ohnishi N, et al. Molecular changes to HeLa cells on continuous exposure to cisplatin or paclitaxel. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2006 Dec;58(6):785-93.
34. Li L, Jiang AC, Dong P, Wan Y, Yu ZW. The characteristics of Hep-2 cell with multiple drug resistance induced by Taxol. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2007 Oct;137(4):659-64.
35. Pesić M, Andjelković T, Banković J, Marković ID, Rakić L, Ruzdijić S. Sulfinosine enhances doxorubicin efficacy through synergism and by reversing multidrug resistance in the human non-small cell lung carcinoma cell line (NCI-H460/R). *Invest New Drugs*. 2009 Apr;27(2):99-110.
36. Argov M, Kashi R, Peer D, Margalit R. Treatment of resistant human colon cancer xenografts by a fluoxetine-doxorubicin combination enhances therapeutic responses comparable to an aggressive bevacizumab regimen. *Cancer Lett*. 2009 Feb 8;274(1):118-25.
37. Sun Z, Zhao Z, Li G, Dong S, Huang Z, Ye L, et al. Relevance of two genes in the multidrug resistance of hepatocellular carcinoma: in vivo and clinical studies. *Tumori*. 2010 Jan-Feb;96(1):90-6.
38. Li G, Chen X, Wang Q, Xu Z, Zhang W, Ye L. The roles of four multi-drug resistance proteins in hepatocellular carcinoma multidrug resistance. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2007 Apr; 27(2):173-5.
39. Dai CL, Liang YJ, Wang YS, Tiwari AK, Yan YY, Wang F, et al. Sensitization of ABCG2-overexpressing cells to conventional chemotherapeutic agent by sunitinib was associated with inhibiting the function of ABCG2. *Cancer Lett*. 2009 Jun 28; 279(1):74-83.
40. Zhou Y, Ling X, Li SW, Li XQ, Yan B. Establishment of a human hepatoma multidrug resistant cell line in vitro. *World J Gastroenterol*. 2010 May 14;16(18):2291-7.

41. Takara K, Kitada N, Yoshikawa E, Yamamoto K, Horibe S, Sakaeda T, et al. Molecular changes to HeLa cells on continuous exposure to SN-38, an active metabolite of irinotecan hydrochloride. *Cancer Lett.* 2009 Jun 8;278(1):88-96.
42. Zhu MM, Tong JL, Xu Q, Nie F, Xu XT, Xiao SD, et al. Increased JNK1 signaling pathway is responsible for ABCG2-mediated multidrug resistance in human colon cancer. *PLoS One.* 2012;7(8):1-9.
43. Robey RW, Zhan Z, Piekarz RL, Kayastha GL, Fojo T, Bates SE. Increased MDR1 expression in normal and malignant peripheral blood mononuclear cells obtained from patients receiving depsipeptide (FR901228, FK228, NSC630176). *Clin Cancer Res.* 2006 Mar 1;12(5):1547-55.
44. Chauhan PS, Bhushan B, Singh LC, Mishra AK, Saluja S, Mittal V, et al. Expression of genes related to multiple drug resistance and apoptosis in acute leukemia: response to induction chemotherapy. *Exp Mol Pathol* 2012 Feb;92(1):44-9.
45. Plasschaert SL, van der Kolk DM, de Bont ES, Kamps WA, Morisaki K, Bates SE, et al. The role of breast cancer resistance protein in acute lymphoblastic leukemia. *Clin Cancer Res.* 2003 Nov 1;9(14):5171-7.
46. Drain S, Flannely L, Drake MB, Kettle P, Orr N, Bjourson AJ, et al. Multidrug resistance gene expression and ABCB1 SNPs in plasma cell myeloma. *Leuk Res.* 2011 Nov;35(11):1457-63.
47. Calatozzolo C, Gelati M, Ciusani E, Sciacca FL, Pollo B, Cajola L, et al. Expression of drug resistance proteins Pgp, MRP1, MRP3, MRP5 and GST-pi in human glioma. *J Neurooncol.* 2005 Sep;74(2):113-21.
48. Trussardi-Regnier A, Millot JM, Gorisse MC, Delvincourt C, Prevost A. Detection of drug-resistance genes using single bronchoscopy biopsy specimens. *Oncol Rep.* 2007 Sep;18(3):703-8.
49. Yeh JJ, Hsu N, Hsu WH, Tsai CH, Lin CC, Liang JA. Comparison of chemotherapy response with P-glycoprotein, multidrug resistance-related protein-1, and lung resistance-related protein expression in untreated small cell lung cancer. *Lung.* 2005 May-Jun;183(3):177-83.
50. Ushijima R, Takayama K, Izumi M, Harada T, Horiuchi Y, Uchino J, et al. Immunohistochemical expression of MRP2 and clinical resistance to platinum-based chemotherapy in small cell lung cancer. *Anticancer Res.* 2007 Nov-Dec;27(6C):4351-8.
51. Xu HW, Xu L, Hao JH, Qin CY, Liu H. Expression of P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein is associated with multidrug resistance in gastric cancer. *J Int Med Res.* 2010 Jan-Feb;38(1):34-42.
52. Hu WQ, Peng C, Li Y. The expression and significance of P-glycoprotein, lung resistance protein and multidrug resistance-associated protein in gastric cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2009 Nov 24;28:144-9.
53. Théou N, Gil S, Devocelle A, Julié C, Lavergne-Slove A, Beauchet A, et al. Multidrug resistance proteins in gastrointestinal stromal tumors: site-dependent expression and initial response to imatinib. *Clin Cancer Res.* 2005 Nov 1;11(21):7593-8.
54. Rudas M, Filipits M, Taucher S, Stranzl T, Steger GG, Jakesz R, et al. Expression of MRP1, LRP and Pgp in breast carcinoma patients treated with preoperative chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat.* 2003 Sep;81(2):149-57.
55. Komdeur R, Plaat BE, van der Graaf WT, Hoekstra HJ, Hollema H, van den Berg E, et al. Expression of multidrug resistance proteins, P-gp, MRP1 and LRP, in soft tissue sarcomas analysed according to their histological type and grade. *Eur J Cancer.* 2003 May;39(7):909-16.
56. Citti A, Boldrini R, Inserra A, Alisi A, Pessolano R, Mastronuzzi A, et al. Expression of multidrug resistance-associated proteins in paediatric soft tissue sarcomas before and after chemotherapy. *Int J Oncol.* 2012 Jul;41(1):117-24.

57. Yasunami T, Wang YH, Tsuji K, Takanashi M, Yamada Y, Motoji T. Multidrug resistance protein expression of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leuk Res.* 2007 Apr;31(4):465-70.
58. Styczynski J, Wysocki M, Debski R, Czyzewski K, Kolodziej B, Rafinska B, et al. Predictive value of multidrug resistance proteins and cellular drug resistance in childhood relapsed acute lymphoblastic leukemia. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2007 Nov;133(11):857-93.
59. Olson DP, Taylor BJ, La M, Sather H, Reaman GH, Ivy SP. The prognostic significance of P-glycoprotein, multidrug resistance-related protein 1 and lung resistance protein in pediatric acute lymphoblastic leukemia: a retrospective study of 295 newly diagnosed patients by the Children's Oncology Group. *Leuk Lymphoma.* 2005 May;46(5):681-91.
60. de Cremoux P, Jourdan-Da-Silva N, Couturier J, Tran-Perennou C, Schleiermacher G, Fehlbaum P, et al. Role of chemotherapy resistance genes in outcome of neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer.* 2007 Mar;48(3):311-7.
61. Bähr O, Rieger J, Duffner F, Meyermann R, Weller M, Wick W. P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein mediate specific patterns of multidrug resistance in malignant glioma cell lines, but not in primary glioma cells. *Brain Pathol.* 2003 Oct;13(4):482-94.
62. Wen J, Zheng B, Hu Y, Zhang X, Yang H, Luo KJ, et al. Establishment and biological analysis of the EC109/CDDP multidrug-resistant esophageal squamous cell carcinoma cell line. *Oncol Rep.* 2009 Jul;22(1):65-71.
63. Obata H, Yahata T, Quan J, Sekine M, Tanaka K. Association between single nucleotide polymorphisms of drug resistance-associated genes and response to chemotherapy in advanced ovarian cancer. *Anticancer Res.* 2006 May-Jun;26(3B):2227-32.
64. Komdeur R, Klunder J, van der Graaf WT, van den Berg E, de Bont ES, Hoekstra HJ, et al. Multidrug resistance proteins in rhabdomyosarcomas: comparison between children and adults. *Cancer.* 2003 Apr 15;97(8):1999-2005.
65. Duan Z, Choy E, Jimeno JM, Cuevas Cdel M, Mankin HJ, Hornicek FJ. Diverse cross-resistance phenotype to ET-743 and PM00104 in multi-drug resistant cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2009 May;63(6):1121-9.
66. Zhao X, Yang L, Hu J, Ruan J. miR-138 might reverse multidrug resistance of leukemia cells. *Leuk Res.* 2010 Aug;34(8):1078-82.
67. Wesolowska O, Molnar J, Ocsovszki I, Michalak K. Differential effect of phenothiazines on MRP1 and P-glycoprotein activity. *In Vivo.* 2009 Nov-Dec;23(6):943-7.
68. Tao LY, Liang YJ, Wang F, Chen LM, Yan YY, Dai CL, et al. Cediranib (recentin, AZD2171) reverses ABCB1- and ABCC1-mediated multidrug resistance by inhibition of their transport function. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2009 Oct;64(5):961-9.
69. Abad-Merin MJ, Cortés N, Masip I, Pérez-Payá E, Ferragut JA, Messeguer A, et al. Trimers of N-alkylglycines are potent modulators of the multidrug resistance phenotype. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005 Apr;313(1):112-20.
70. Ye CG, Wu WK, Yeung JH, Li HT, Li ZJ, Wong CC, et al. Indomethacin and SC236 enhance the cytotoxicity of doxorubicin in human hepatocellular carcinoma cells via inhibiting P-glycoprotein and MRP1 expression. *Cancer Lett.* 2011 May 28;304(2):90-6.
71. Sun M, Xu X, Lu Q, Pan Q, Hu X. Schisandrin B: a dual inhibitor of P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein 1. *Cancer Lett.* 2007 Feb 8;246(1-2):300-7.
72. Goodman VL, Rock EP, Dagher R, Ramchandani RP, Abraham S, Gobburu JV, et al. Approval summary: sunitinib for the treatment of imatinib refractory or intolerant gastrointestinal stromal tumors and advanced renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2007 Mar 1;13(5):1367-73.
73. Ma Y, Wink M. The beta-carboline alkaloid harmine inhibits BCRP and can reverse resistance to the anticancer drugs mitoxantrone and camptothecin in breast cancer cells. *Phytother Res.* 2010 Jan;24(1):146-9.

74. Rothweiler F, Michaelis M, Brauer P, Otte J, Weber K, Fehse B, et al. Anticancer effects of the nitric oxide-modified saquinavir derivative saquinavir-NO against multidrug-resistant cancer cells. *Neoplasia*. 2010 Dec;12(12):1023-30.
75. Limtrakul P, Chearwae W, Shukla S, Phisalpong C, Ambudkar SV. 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 Feb;296(1-2):85-95.
76. Ojima I, Borella CP, Wu X, Bounaud PY, Oderda CF, Sturm M, et al. Design, synthesis and structure-activity relationships of novel taxane-based multidrug resistance reversal agents. *J Med Chem*. 2005 Mar 24;48(6):2218-28.
77. Coburger C, Wollmann J, Krug M, Baumert C, Seifert M, Molnár J, et al. Novel structure-activity relationships and selectivity profiling of cage dimeric 1,4-dihydropyridines as multidrug resistance (MDR) modulators. *Bioorg Med Chem*. 2010 Jul 15;18(14):4983-90.
78. Chan KF, Wong IL, Kan JW, Yan CS, Chow LM, Chan TH. Amine linked flavonoid dimers as modulators for P-glycoprotein-based multidrug resistance: structure-activity relationship and mechanism of modulation. *J Med Chem*. 2012 Mar 8;55(5):1999-2014.
79. Zahedi P, De Souza R, Huynh L, Piquette-Miller M, Allen C. Combination drug delivery strategy for the treatment of multidrug resistant ovarian cancer. *Mol Pharm*. 2011 Feb 7;8(1):260-9.
80. Wu F, Shao ZY, Zhai BJ, Zhao CL, Shen DM. Ultrasound reverses multidrug resistance in human cancer cells by altering gene expression of ABC transporter proteins and Bax protein. *Ultrasound Med Biol*. 2011 Jan;37(1):151-9.
81. Ryu JS, Um JH, Kang CD, Bae JH, Kim DU, Lee YJ, et al. Fractionated irradiation leads to restoration of drug sensitivity in MDR cells that correlates with down-regulation of P-gp and DNA-dependent protein kinase activity. *Radiat Res*. 2004 Nov;162(5):527-35.
82. Souslova T, Averill-Bates DA. Multidrug-resistant hela cells overexpressing MRP1 exhibit sensitivity to cell killing by hyperthermia: interactions with etoposide. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2004 Dec 1;60(5):1538-51.
83. Rózalski M, Krajewska U, Panczyk M, Mirowski M, Rózalska B, Wasek T, et al. Synthesis and biological evaluation of 4-methylideneisoxazolidin-5-ones--a new class of highly cytotoxic alpha-methylidene-gamma-lactones. *Eur J Med Chem*. 2007 Feb;42(2):248-55.
84. Watanabe J, Minami M, Kobayashi M. Antitumor activity of TZT-1027 (Soblidotin). *Anticancer Res*. 2006 May-Jun;26(3A):1973-81.
85. Jakubikova J, Bao Y, Sedlak J. Isothiocyanates induce cell cycle arrest, apoptosis and mitochondrial potential depolarization in HL-60 and multidrug-resistant cell lines. *Anticancer Res*. 2005 Sep-Oct;25(5):3375-86.
86. Skupień K, Oszmiański J, Kostrzewa-Nowak D, Tarasiuk J. In vitro antileukaemic activity of extracts from berry plant leaves against sensitive and multidrug resistant HL60 cells. *Cancer Lett*. 2006 May 18;236(2):282-91.
87. de Jong MC, Scheffer GL, Broxterman HJ, Hooijberg JH, Slootstra JW, Meloen RH, et al. Multidrug-resistant tumor cells remain sensitive to a recombinant interleukin-4-Pseudomonas exotoxin, except when overexpressing the multidrug resistance protein MRP1. *Clin Cancer Res*. 2003 Oct 15;9(13):5009-17.
88. Seo T, Urasaki Y, Takemura H, Ueda T. Arsenic trioxide circumvents multidrug resistance based on different mechanisms in human leukemia cell lines. *Anticancer Res*. 2005 Mar-Apr;25(2A):991-8.
89. Di Nicolantonio F, Knight LA, Whitehouse PA, Mercer SJ, Sharma S, Charlton PA, et al. The ex vivo characterization of XR5944 (MLN944) against a panel of human clinical tumor samples. *Mol Cancer Ther*. 2004 Dec;3(12):1631-7.
90. Mukai M, Che XF, Furukawa T, Sumizawa T, Aoki S, Ren XQ, et al. Reversal of the resistance to STI571 in human chronic myelogenous leukemia K562 cells. *Cancer Sci*. 2003 Jun;94(6):557-63.

91. Gao S, Liu Q, Wang X, Lin B, Zhang S. Effects of Lewis Y antigen on the gene expression of multiple drug resistance-associated proteins in human ovarian cancer RMG-I-H cells. *Med Oncol.* 2010 Sep;27(3):960-7.
92. Ambudkar SV, Dey S, Hrycyna CA, Ramachandra M, Pastan I, Gottesman MM. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1999;39:361-98.
93. Borst P, Evers R, Kool M, Wijnholds J. A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000 Aug 16;92(16):1295-302.
94. Doyle LA, Yang W, Abruzzo LV, Krogmann T, Gao Y, Rishi AK, et al. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998 Dec 22;95(26):15665-70.
95. Kool M, de Haas M, Scheffer GL, Scheper RJ, van Eijk MJ, Juijn JA, Baas F, et al. Analysis of expression of cMOAT (MRP2), MRP3, MRP4, and MRP5, homologues of the multidrug resistance-associated protein gene (MRP1), in human cancer cell lines. *Cancer Res.* 1997 Aug 15;57(16):3537-47.
96. Hirrlinger J, König J, Dringen R. Expression of mRNAs of multidrug resistance proteins (Mrps) in cultured rat astrocytes, oligodendrocytes, microglial cells and neurones. *J Neurochem.* 2002 Aug;82(3):716-9.
97. Chevillard S, Vielh P, Vallidire P, Robert J, Marie JP. [A study of the expression of MDR1 gene in solid tumors. Initial results of a multicenter evaluation]. *Bull Cancer.* 1996 Aug;83(8):626-33.
98. Sun YL, Patel A, Kumar P, Chen ZS. Role of ABC transporters in cancer chemotherapy. *Chin J Cancer.* 2012 Feb;31(2):51-7.
99. Szakács G, Paterson JK, Ludwig JA, Booth-Genthe C, Gottesman MM. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discov.* 2006 Mar;5(3):219-34.
100. Planting AS, Sonneveld P, van der Gaast A, Sparreboom A, van der Burg ME, Luyten GP, et al. A phase I and pharmacologic study of the MDR converter GF120918 in combination with doxorubicin in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2005 Jan;55(1):91-9.
101. Lê LH, Moore MJ, Siu LL, Oza AM, MacLean M, Fisher B, et al. Phase I study of the multidrug resistance inhibitor zosuquidar administered in combination with vinorelbine in patients with advanced solid tumours. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2005 Aug;56:154-160.
102. Stewart A, Steiner J, Mellows G, Laguda B, Norris D, Bevan P. Phase I trial of XR9576 in healthy volunteers demonstrates modulation of P-glycoprotein in CD56+ lymphocytes after oral and intravenous administration. *Clin Cancer Res.* 2000 Nov;6(11):4186-91.
103. Mellor HR, Callaghan R. Resistance to chemotherapy in cancer: A complex and integrated cellular response. *Pharmacology.* 2008;81(4):275-300.
104. Schinkel AH, Mayer U, Wagenaar E, Mol CA, van Deemter L, Smit JJ, et al. Normal viability and altered pharmacokinetics in mice lacking mdr1-type (drug-transporting) P-glycoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997 Apr 15;94(8):4028-33.
105. Zhang ZJ, Saito T, Kimura Y, Sugimoto C, Ohtsubo T, Saito H. Disruption of mdr1a p-glycoprotein gene results in dysfunction of blood-inner ear barrier in mice. *Brain Res.* 2000 Jan 3;852(1):116-26.
106. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmoller J, John A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000 March 28;97(7):3473-8.