

Efluxní transmembránový transportér – P-glykoprotein

Pechandová K., Buzková H., Slanař O., Perlík F.

Oddělení klinické farmakologie, 1. LF UK, Praha

SOUHRN

P-glykoprotein je efluxní transmembránová pumpa, která využívá k extracelulárnímu transportu látek hydrolyzu ATP. Hraje významnou roli v absorpci, distribuci a eliminaci řady léčiv a je důležitým obranným mechanismem před vstupem xenobiotik do organismu. P-glykoprotein je produktem MDR1 genu, jeho nadměrná exprese a funkčnost je jednou z hlavních příčin lékové rezistence k terapii. Dodnes bylo identifikováno mnoho bodových polymorfismů v MDR1 genu a jejich vliv na funkci P-glykoproteinu se intenzivně studuje. Tento článek shrnuje informace o struktuře, substrátové specifitě, lékové rezistenci a polymorfismech MDR1 genu.

Klíčová slova: MDR1, P-glykoprotein, transportér, polymorfismus, léková rezistence.

SUMMARY

Pechandová K., Buzková H., Slanař O., Perlík F.: Efflux transmembrane transporter – P-glycoprotein

P-glycoprotein (Pgp) is an ATP-dependent efflux pump extracellularly transporting a variety of compounds. It influences bioavailability, disposition and excretion of many drugs as well. Its major localizations are in intestinal, hepatic, renal epithelial cells and hemato-encephalic (blood-brain) barrier and therefore it is considered as an important defence mechanism of the body against xenobiotics. Pgp is a protein product of MDR1 gene, whose overexpression and causing high activity of Pgp in cancer cells and represents one of the mechanisms of multidrug resistance to anticancer therapy. Several single nucleotide polymorphisms have been identified in the MDR1 gene and their functional importance is being intensively studied.

This article reviews recent knowledge of the structure, structural specificity of Pgp, and functional significance of several MDR1 polymorphisms.

Key words: MDR1, P-glycoprotein, transporter, polymorphism, multidrug resistance.

Úvod

P-glykoprotein je efluxní transmembránová pumpa, která má významnou roli v absorpci, distribuci a eliminaci řady léčiv a je důležitým obranným mechanismem před vstupem xenobiotik do organismu. Nadměrná exprese genu, který tento protein kóduje, často vede k rezistenci na podávanou terapii.

Juliano a Ling jako první zaznamenali v roce 1976 souvislost mezi sníženou prostupností membrány ovariálních nádorových buněk čínského křečka pro kolchicin a vzestupem exprese vysokomolekulárního glykoproteinu (170 000–180 000 Da), který byl nazván P-glykoprotein (Pgp) [16].

Lidský gen MDR1 byl izolován až o deset let později z mnohočetně rezistentních rakovinných buněk [30]. Gen MDR1 je lokalizován na dlouhém raménku chromosomu 7q21-21.1.

Během několika let byly další geny příbuzné lidskému izolovány také u myši, potkana a křečka. Geny byly klasifikovány do tří tříd – tabulka 1 [30]. Ačkoliv MDR1 a MDR2 geny kódují vysoce homologní proteiny, které pravděpodobně pracují jako efluxní pumpy, jejich substrátové spektrum se liší a ukázalo se, že lidský MDR1 gen a *mdr1a*, *mdr1b* geny u hlodavců jsou spojeny s rozvojem lékové rezistence. Exprese cDNA MDR2 a Pgp3 nevedla ke vzniku rezistence k látkám, které jsou s tímto fenotypem spojené [13]. Mezi lidským genem MDR1 a genem *mdr1b* potkana je sekvenční homologie 79,1 %.

Struktura P glykoproteinu

Pgp vytváří velký vodní kanál, který je uzavřený směrem k cytoplazmě a otevřený do extracelulárního prostoru [28]. Molekulární podklad struktury Pgp vytváří monomerní transmembránová bílkovina složená z 1280 aminokyselin, která je tvořena dvěma analogickými částmi se 43% sekvenční homologií. Obě poloviny (N- a C-konec) obsahují dvanáct transmembránových α -helix šroubovic, které jsou odděleny šesti extracelulárními, hydrofilními smyčkami, a obsahují četné N-glykosylace na asparaginu 91, 94, 99. V cytosolu jsou dvě nukleotidy vázající domény, na kterých dochází k hydrolyze ATP za uvolnění energie využívané k transportu substrátů. Toto ATPázové místo (představuje přibližně 200 aminokyselin) je charakteristické pro tzv. ATP Binding Cassette proteiny (ABC), kam je kro-

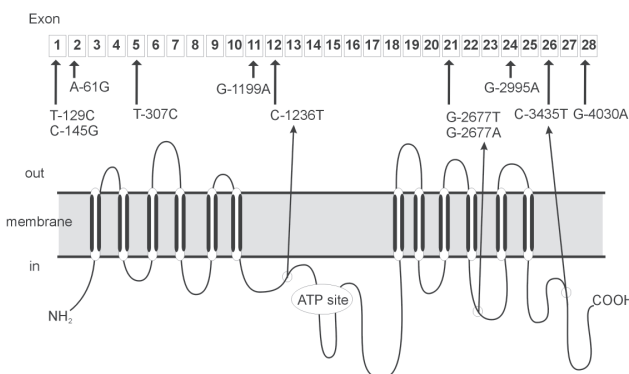


Fig. 1. P-glycoprotein

Table 1. Classification of MDR genes and characteristic of their products

Class	Gene	Species	Amino acids	Molecule weight
I.	MDR1	man – <i>Homo sapiens</i>	1280	141 463
	mdr1a(mdr3)	mouse – <i>Mus musculus</i>	1276	140 755
	Pgp1	hamster – <i>Cricetulus griseus</i>	1276	140 926
	Pgp1(mdr1b)	rat – <i>Rattus norvegicus</i>	1277	141 387
II.	mdr1b(mdr1)	mouse – <i>Mus musculus</i>	1276	140 994
	Pgp2	hamster – <i>Cricetulus griseus</i>	1276	141 058
	Pgp2(mdr1a)	rat – <i>Rattus norvegicus</i>	1272	140 325
III.	MDR3(MDR2)	man – <i>Homo sapiens</i>	1279	140 682
	mdr2	mouse – <i>Mus musculus</i>	1276	140 333
	Pgp3	hamster – <i>Cricetulus griseus</i>	1281	140 866
	Pgp3(mdr2)	rat – <i>Rattus norvegicus</i>	1278	140 655

Based on SwissProt database (<<http://www.expasy.org/sprot/>>).

mě Pgp řazena řada dalších membránových bílkovin (multidrug resistance-associated protein – MRP, breast cancer resistance protein – BCRP/MXR/ABCP a další) [7]. Obě homologní poloviny jsou vzájemně propojeny peptidovým segmentem, který je složený ze 75 aminokyselin (obr. 1).

Morfologicky struktura Pgp připomíná válec o průměru 10 nm s maximální výškou 8 nm, který je asi z jedné poloviny skryt v buněčné membráně s průměrnou tloušťkou fosfolipidové dvojvrstvy přibližně 4 nm. Přenašeč se při pohledu z extracelulárního prostoru jeví jako různými směry nepravidelně vybočený hexagonální pór o průměru 5 nm. Vlastní tělo proteinu je tvořeno dvěma prstenci, každý se třemi laloky. Pravděpodobně by prstence mohly odpovídat dvěma transmembránovým doménám a šest laloků je zřejmě tvořeno šesti extracelulárními smyčkami spojujícími transmembránové úseky [5, 8].

Substráty P-glykoproteinu

Pro Pgp je typické, v porovnání s ostatními transportéry, že s ním interaguje velké množství látek, často chemicky i funkčně značně odlišných. Patří sem kromě mnoha xenobiotik nejen léčiva z různých farmakoterapeutických skupin, ale i endogenní hormony a jiné látky (tab. 2).

Pro většinu substrátů je typické, že jsou hydrofobní nebo amfifilní povahy (tedy obsahují hydrofilní i hydrofobní části) a jsou planárně uspořádané. Mají molekulovou hmotnost přes 400 D a při pH 7,4 jsou kladně nabitě. Ale tyto charakteristiky nejsou vždy podmínkou pro substráty Pgp, neboť Pgp méně často přenáší i některé neutrální (např. digoxin) nebo i negativně nabitě (atorvastatin) molekuly, dokonce i molekuly hydrofilní povahy, jako je metotrexát nebo substráty s molekulovou hmotností nižší než 400 D [34]. Hlavním předpokladem pro to, aby se molekula stala substrátem Pgp, je přítomnost dvou elektron-donorových skupin s prostorovým přerušením $2,5 \pm 0,3$ A nebo $4,6 \pm 0,6$ A nebo tří elektron-donorových skupin s prostorovým odstupem

Table 2. Substrates of P-glycoprotein

Substrates of P-glycoprotein		
Anticancer Drugs	Imunosuppressants	Calcium Channel Blockers a metabolites
Actinomycin	Cyclosporin A	Diltiazem
Etoposide	Tacrolimus	Mibefradil
Docetaxel	Rapamycin	Nicardipine
Doxorubicin	Steroids	Verapamil
Daunorubicin	Aldosterone	N-dealkylverapamil
Epirubicin	Dexamethason	N-dealkynorverapamil
Etoposid	Estradiol	H1- antihistamines
Irinotecan	Hydrocortisone	Fexofenadin
Mitomycin C	Antiemetics	Terfenadin
Mitoxantron	Domperidon	H2-antihistamines
Paclitaxel (Taxol)	Ondansetron	Cimetidin
Tamoxifen	Hypolipidemics	Ranitidin
Temiposide	Atorvastatin	Opiates
Teniposid	Lovastatin	Morfium
Topotecan	Antibiotics	Loperamid
Vinblastine	Erythromycin	Others
Vincristine	Levofloxacin	Debrisoquine
Vindesine	Sparfloxacin	Fenytoin
Cardiotonics	βblockers	Rifampin
Antiarrhythmics	Celoprolool	Amitriptylin
Digoxin	Talinolol	Losartan
Digitoxin		Emetin
Chinidin		Colchicine
Amiodaron		
HIV protease inhibitors		
Amprenavir		
Indinavir		
Nelfinavir		
Sequinavir		
Ritonavir		

4,6 ± 0,6 Å [32], které mohou vytvářet vodíkové vazby. Zároveň se ve struktuře Pgp vyskytuje vysoké procento aminokyselin schopných vytvářet vodíkové vazby. Ty se vyskytují především v transmembránových doménách 4, 5, 6, 11 a 12, tzn. zejména v doménách, které se významně podílejí na interakci přenašeče se substráty.

Funkční mechanismus – jak P-glykoprotein pracuje?

Fotoafinitní analogů substrátů Pgp byla využita jako velmi přesná metoda pro zjištění, které oblasti ve struktuře Pgp interagují s těmito substráty. Dále analýzy místně cílených mutací (např. L339C a A342C v transmembránové doméně 6, L975C, V982C, a A985C v transmembránové doméně 12 vedly k inhibici ATPázové aktivity po navázání thiol-reaktivního substrátu Pgp – dibromobimanu), které ovlivnily přesnost navázání substrátů, biosyntézu Pgp nebo jeho funkci, podpořily teorii, že hlavní místa interakce jsou především v transmembránových doménách 5, 6, a 11, 12, v extracelulárních smyčkách spojujících tyto domény a v doménách ATP [23]. Funkční propojení nebo kooperace obou strukturních polovin Pgp je nezbytnou podmínkou pro transport mediovaný Pgp. Delece centrálního jádra oblasti spojující nukleotid vázající domény, která přeruší funkční vztah mezi oblastmi interagujícími se substráty a oblastmi zodpovědnými za hydrolýzu ATP, vede ke kompletní ztrátě funkce proteinu [21].

Molekulární mechanismus funkce Pgp, není stále přesně jasný, ačkoliv existuje řada teorií a modelů o funkci Pgp. V roce 1988 byl jako první popsán model pumpy, ve kterém specifická vazebná místa rozeznávají své substráty, které jsou pak pumpovány přímo přes cytoplazmatickou membránu za využití energie uvolněné při hydrolýze ATP [11].

Další teorie pokládá změny ve fyzikálně-chemických vlastnostech cytoplazmatických membrán vyvolaných Pgp za vlastní mechanismus funkce přenašeče umožňující transport jeho substrátů. Vzhledem k absenci změn fyzikálně-chemických vlastností membrán u řady buněk exprimujících MDR1 nemůže být tento mechanismus dostatečným vysvětlením mechanismu funkce Pgp [1]. Podle jiné teorie pracuje Pgp mechanismem tzv. flipáza. Tento model podpořil objev, že produkt genu MDR2 je fosfatidylcholin translokáza (tedy flipáza) potřebná k vypuzení fosfatidylcholinu do žluče [29]. Nejčastěji prezentovanou teorií je katalytický cyklus Pgp. V tomto modelu N- a C- konec vytvářejí nejméně dvě neidentická vazebná místa nazývaná „ON“ a „OFF“. ON místo je situováno blíže vnitřní straně lipidové dvojvrstvy a na něj se váže léčivo, které přistupuje z vnitřní cytoplazmatické membrány. Po hydrolýze ATP dojde ke konformační změně, která způsobí pokles afinity substrátu k ON místu a látka se přemístí na OFF místo, tedy blíže k vnějšímu povrchu. Uvolnění látky z OFF místa se děje buď před uvolněním fosfátové jednotky z ATP, nebo až po něm.

Existují dvě alternativy popisu tohoto transportního cyklu. V prvním modelu se předpokládá, že navázání substrátu snižuje aktivační energii a zvyšuje afinitu pro molekuly ATP, naopak v druhém modelu se

ATP a substrát váží nezávisle na sobě. Významný rozdíl je v popisu přechodu substrátu z vysoce afinitního místa do nízkofinitního a jeho následné uvolnění. Jeden model předpokládá vytvoření diméru v oblasti nukleotid vázajících domén, který vede ke konformační změně, která přesune substrát blíže k vnějšímu povrchu. Dvě po sobě následující hydrolýzy vedou k rozlomení dimerní struktury a Pgp se vrací do svého základního stavu. Druhá teorie také předpokládá hydrolýzu dvou molekul ATP, ale hydrolýza jedné molekuly ATP vede ke konformační změně a tím i k posunu substrátu do nízkofinitního místa a k jeho následnému uvolnění; hydrolýza druhé molekuly ATP navrácí Pgp do jeho základního stavu [12, 31].

Fyziologické funkce – na co má Pgp vliv?

Pgp hraje významnou roli v ochraně organismu před vstupem xenobiotik do organismu a zároveň napomáhá jejich eliminaci. Přenašeč je strategicky situován v epiteliálních buňkách orgánů podílejících se na absorpci a distribuci látek, jako jsou enterocyty, buňky hematoencefalické a testikulární bariéry, a také v lokalizacích s čistě exkreční funkcí – v kanalikulární membráně hepatocytů, na apikální straně epitelových buněk žlučových kanálků a renálního proximálního tubulu [34]. Pgp je mimo to také součástí procesu distribuce a transportu některých endogenních látek v organismu, např. cholesterolu, kortisolu, glutathion-S-konjugátů, a dále se podílí např. v syntéze steroidních hormonů.

Myš *mdr1b* gen je silně exprimován v kůře nadledvin, v gravidní děloze a placentě. Cílené mutace tohoto genu odhalily zpětnovazebný regulační mechanismus v syntéze steroidních hormonů a exprese Pgp. Stimulace steroidní biosyntézy pomocí ACTH vedla ke zvýšení hladiny *mdr1b* mRNA, ale efluxní aktivita Pgp klesla. Ve shodě s tímto byla sekrece steroidních hormonů u myších buněk blokována vysokými dávkami inhibitorů Pgp [2]. Pgp se pravděpodobně účastní také na transportu některých cytokinů – např. IL-2, IL-4, interferonu-gama z periferních T-lymfocytů [10]. Dále se podílí na mobilizaci dendritických buněk z periferie do lymfatických uzlin, tím iniciuje T-lymfocyty zprostředkovanou imunitu [27].

Podle prací prováděných s knockout myšmi kmeny deficitními pro *mdr* geny nemá kompletní deficit Pgp vliv na základní životní funkce. V porovnání se zvířaty s plně funkčním Pgp je u těchto myší možné nalézt významné změny ve farmakokinetických parametrech některých léčiv a patrně může být funkce Pgp nebo její deficit také součástí patogeneze některých onemocnění. Je popsána např. statisticky významně zvýšená distribuce digoxinu (substrát Pgp) do mozku, varlat, nadledvin a vaječníků u *mdr1* knockout myší [33]. Pro možnou účast deficitu Pgp v etiopatogenezi idiopatických střevních zánětů svědčí některé práce, popisující vyšší výskyt funkčně deficitních alel MDR1 u pacientů s idiopatickými střevními záněty ve srovnání se zdravou populací a také vyšší frekvenci výskytu těchto alel u pacientů s těžkými a farmakorezistentními foemamiidiopatickými střev-

ními záněty [25]. Preklinické studie však spíše podporují roli funkčního Pgp jako protektivního faktoru před rozvojem zánětlivých změn. U *mdr1a* knockout myši dochází k rozvoji spontánní kolitidy, která byla úspěšně zvrácena preventivním podáváním antibiotik [24].

Neobvykle vysoká aktivita Pgp vznikající nadměrnou expresí genu *MDR1* u nádorových buněk je považována za jednu z významných příčin rozvoje mnohočetné lékové rezistence, tzv. *MDR* (multi drug resistance), jenž se z důvodu široké substrátové specifity týká i léčiv, kterým nádorové buňky nebyly ještě nikdy vystaveny. První zmínka o indukované rezistenci k terapii u myších leukemických buněk je již z roku 1950 [4]. V roce 1973 byla popsána spojitost mezi efluxním transportem daunomycinu s rezistencí k jiným chemoterapeutikům, jako např. vinka alkaloidům [6], ale souvislost tohoto jevu s nadměrnou expresí Pgp byla nalezena až později. Např. u dětské akutní lymfoblastické leukémie je exprese Pgp signifikantně vyšší při relapsu onemocnění ve srovnání s časem primární diagnózy ($p = 0,001$) [9]. Také u rakoviny prsu byla chemoterapie a hormonální léčba spojena se zvýšením exprese *MDR* genu (RR – relativní riziko = 1,77) a u pacientů, u nichž byla zaznamenána exprese Pgp v nádorových buňkách, docházelo k trojnásobně vyššímu selhání terapie než u pacientů s negativní expresí Pgp ($RR = 3,21$) [35].

Zvýšená exprese genu *MDR1* může být tedy využita v predikci špatné prognózy u některých onemocnění. Ovšem nadměrná exprese Pgp nemusí být indukována jen léčivy nebo chemickými sloučeninami, ale i fyzickým stresem, UV zářením, rentgenovým zářením, tepelným šokem atd. [32].

Jednou z možných strategií, jak zvrátit mnohočetnou lékovou rezistenci, je inhibovat funkci Pgp za využití specifických inhibitorů, které by zamezily nežádoucímu poklesu intracelulárních koncentrací způsobenému extenzivním přenosem chemoterapie extracelulárně. Tuto vlastnost má např. inhibitor kalciového kanálu verapamil, který je řazen k první generaci inhibitorů Pgp. Dále do této skupiny patří také cyklosporin, amiodaron nebo tamoxifen. Účinnost první generace inhibitorů Pgp je ale bohužel tak nízká, že by k vyvolání dostatečné inhibice Pgp bylo nutné podávat velmi vysoké dávky spojené s významnou toxicitou těchto inhibitorů [19]. Dalším úskalím této strategie je, že inhibitor blokuje funkci Pgp i v ostatních tkáních, jako jsou játra a ledviny, kde Pgp napomáhá eliminaci protinádorových léčiv. Tím se tedy snižuje clearance chemoterapeutik a zvyšuje jejich toxicita [20] vyvolávající nutnost redukce dávkování chemoterapeutik. Druhá generace inhibitorů Pgp byla vyvinuta pouze za účelem překonání mnohočetné lékové rezistence. Některé látky jsou analogy k první generaci, ale jsou více účinné a méně toxické, např. *PSC 833* (valsopodar). Valsopodar je 10krát účinnější než cyklosporin, ale stále vyžaduje výraznou redukci dávek chemoterapeutik. Navíc významně snižuje eliminaci žlučových solí blokadou *ABCB11* – proteinu příbuzného Pgp, který je exportuje [3]. Další látka *VX-710* (biricodar) obnovuje buněčnou citlivost k protinádorovým lékům, ale opět vyžaduje redukci dávek chemoterapeutika.

K eliminaci těchto nežádoucích farmakokinetických interakcí [19] se začala vyvíjet třetí generace inhibitorů, jako je např. *OC144-093*, pyronaridin, které nejsou nespecificky cytotoxické, ale jsou specifické k Pgp, mají dobrou biologickou dostupnost, dlouhé trvání účinku a nejsou u nich významně vyjádřeny interakce s chemoterapeutiky. Ačkoliv mechanismus zvratu mnohočetné rezistence není zcela jasný, inhibitory jsou obecně velmi silně hydrofobní látky (nejvyšší parciální koeficient u chemoterapeutik byl 3,3 oproti 5,3 pro pyronaridin), které významně soutěží se substráty Pgp o jejich vazebná místa na Pgp, a tím následně dochází k nahromadění protinádorových léčiv intracelulárně. Předpokládá se, že parciální koeficient inhibitorů by měl být vyšší než 4 [26].

Další možná strategie, jak zabránit vzniku mnohočetné lékové rezistence, je zamezit dozrání Pgp po jeho biosyntéze. Ukázalo se, že nezralý Pgp nedosáhne buněčného povrchu a zároveň nejví ATP indukované konformační změny. Předpokládá se tedy, že Pgp není okamžitě po syntéze plně funkční, proto by dalším směrem výzkumu mohlo být hledání nových sloučenin, které budou inhibovat vyžívání Pgp [22].

Polymorfismy *MDR1*

V genu *MDR1* je popisován vysoký výskyt bodových polymorfismů, neboli záměn jedné báze na specifickém místě genu za jinou (tzv. Single Nucleotide Polymorphisms – SNPs). Do současné doby jich bylo zaznamenáno více než 50. První zpráva o funkčním polymorfismu genu *MDR1* je z roku 1989 [30]. Z lidských nadledvin, kde je Pgp hojně zastoupen, byla izolována v celé délce genu cDNA a odvozeno pořadí aminokyselin. Ve srovnání s Pgp získaným z buněk rezistentních na kolchicin byla v aminokyselinové sekvenci nalezena substituce Gly→Val v kodonu 185. Buňky, do kterých byla vnesena cDNA, nesoucí informaci pro Val 185, získaly větší rezistenci ke kolchicinu [18]. Další polymorfismy na úrovni DNA byly popsány v roce 1998 v pozicích G2677T a G2995A exonu 21 a 24.

První systematický screening polymorfismů *MDR1* uskutečnil Hoffmeyer et al. v roce 2000 [14] a našel 15 různých polymorfismů, z nichž 12 nemění sekvenci aminokyselin proteinu a 7 je lokalizováno v intronech. Tři polymorfismy v exonu 2 (Asn21Asp), 5 (Phe103Leu) a 11 (Ser400Asn) vedou k záměně aminokyseliny, a mohou tak měnit funkčnost proteinu změnou náboje, velikostí molekuly proteinu atd. Polymorfismus exonu 26 v pozici 3435 (C3435T), který nezpůsobuje změny v sekvenci aminokyselin, mění intenzitu exprese proteinu v duodenu a tím ovlivňuje farmakokinetiku, zejména absorpci typického substrátu Pgp – digoxinu. U jedinců homozygotních pro alelu T byla ve srovnání s jedinci homozygotními pro alelu C zaznamenána více než 2krát nižší exprese intestinálního Pgp, s následně zvýšenými plazmatickými koncentracemi digoxinu díky jeho rychlejší a úplnější absorpci. Terminální eliminace byla srovnatelná s jedinci s alelou C/C [15].

Všeobecně se může jeden polymorfismus vyskytovat zároveň s polymorfismem v jiné pozici – tzv. haplotyp. Analýzy *MDR1* genu se zaměřily na nejčastěji

se vyskytující spojení sekvenčních variant v exonu 26 s variantami v exonu 21, 12 a v intronu 6. Johne et al. pro haplotyp s T alelou v pozici 3435 a G v 2677 naměřili vyšší plazmatické koncentrace digoxinu. Naopak u nositelů alel s haplotypem T v pozici 3435 a T alelou v pozici 2677 a u nositelů wild type alel byly naměřené hodnoty nižší.

Analýzy haplotypů pomáhají sladit rozporné výsledky ze studií, které se zaměřily jen na jednotlivé SNPs (např. ve studii Kim et al. naměřili nižší plazmatické koncentrace fexofenadinu u homozygotů T/T 3435, rozšířili proto svou studii na analýzu haplotypů, která byla ve shodě s výsledky jiných laboratoří) [15].

Podobně jako v případě polymorfismů jiných genů existují výrazné mezirasové rozdíly ve frekvenci výskytu polymorfismů MDR1. Například pro C3435T je frekvence genotypů C/C a T/T v bělošské populaci srovnatelná, přibližně 25%, zatímco v africké populaci je frekvence T/T genotypu pouze 6% [15, 17].

Závěr

P-glykoprotein má významnou funkci při ochraně organismu před vstupem xenobiotik a zároveň napomáhá jejich eliminaci. Při podávání léčiv aktivita Pgp nejen značně ovlivňuje jejich absorpci a eliminaci, ale také distribuci do cílových tkání, což je jedním z mechanismů vzniku mnohočetné lékové rezistence na protinádorovou léčbu. Odhalení příčin výrazné interindividuální variability aktivity Pgp a detailní poznání molekulárního mechanismu jeho funkce snad v budoucnu přispěje – spolu s aplikací nadějných postupů modulace aktivity přenašeče – ke zlepšení terapie léčiv, které jsou substráty Pgp.

V současné době není stanovování genotypu P-gp běžnou rutinní metodikou, ale probíhá jen na úrovni výzkumných záměrů. Hlavním cílem do budoucna je nalézt možné klinické koreláty a jejich uplatnění v praxi.

Literatura

1. Ambudkar, S. V., Dey, S., Hrycyna, C. A., Ramachandra, M., Pastan, I., Gottesman, M. M. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1999, 39, p. 361–98.
2. Altuvia, S., Stein, W. D., Goldenberg, S., Kane, S. E., Pastan, I., Gottesman, M. M. Targeted disruption of the mouse *mdr1b* gene reveals that steroid hormones enhance *mdr* gene expression. *J. Biol. Chem.*, 1993, 268, 36, p. 27127–27132.
3. Bates, S. E. *Solving the problems of multidrug resistance: ABC transporters in clinical oncology*. In Holland, I. B., Cole, S. P., Kuchler, K. et al., eds. *ABC Proteins: From Bacteria to man*. London : Elsevier Science 2002, p. 359–391.
4. Burchenal, J. H., Robinson, E. The induction of resistance to 4-amino-N10-methylpteroylglutamic acid in a strain of transmitted mouse leukemia. *Science*, 1950, 111, 2875, p. 116.
5. Chin, J. E., Soffir, R., Noonan, K. E., Choi, K., Roninson, I. B. Structure and expression of the human MDR (P-glycoprotein) gene family. *Mol. Cell. Biol.*, 1989, 9, p. 3808–3820.
6. Dano, K. Active outward transport of daunomycin in resistant Ehrlich ascites tumor cells. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1973, 323, 3, p. 466–483.
7. Dean, M., Hamon, Y., Chinin, G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J. Lipid Res.*, 2001, 42, 7, p. 1007–1017.
8. Dey, S., Ramachandra, M., Pastan, I., Gottesman, M.M., Ambudkar, S.V. Evidence for two nonidentical drug-interaction sites in the human P-glycoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94, 20, p. 10594–10599.
9. Dhooze, C., De Moerloose, B., Laureys, G. et al. P-glycoprotein is an independent prognostic factor predicting relapse in childhood acute lymphoblastic leukaemia: results of a 6-year prospective study. *Br. J. Haematol.*, 1999, 105, 3, p. 676–683.
10. Drach, J., Gsur, A., Hamilton, G. et al. Involvement of P-glycoprotein in the transmembrane transport of interleukin-2 (IL-2), IL-4, and interferon-gamma in normal human T lymphocytes. *Blood*, 1996, 88, 5, p. 1747–1754.
11. Gottesman, M. M., Pastan, I. The multidrug transporter, a double-edged sword. *J. Biol. Chem.*, 1988, 263, 25, p. 12163–12166.
12. Higgins, C. F., Linton, K. J. The ATP switch model for ABC transporters. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2004, 10, p. 918–926.
13. Ho, G. T., Moodie, F. M., Satsangi, J. Multidrug resistance 1 gene (P-glycoprotein 170): an important determinant in gastrointestinal disease? *Gut*, 2003, 52, 5, p. 759–766.
14. Hoffmeyer, S., Burk, O., von Richter, O. 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, 97, 7, p. 3473–3478.
15. Johne, A., Kopke, K., Gerloff, T. et al. Modulation of steady-state kinetics of digoxin by haplotypes of the P-glycoprotein MDR1 gene. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2002, 72, 5, p. 584–594.
16. Juliano, R. L., Ling, V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta*, 1976, 455, 1, p. 152–162.
17. Kim, R. B., Lezme, B. F., Choo, E. F. et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2001, 70, 2, p. 189–199.
18. Kioka, N., Tsubota, J., Kakehi, Y. et al. P-glycoprotein gene (MDR1) cDNA from human adrenal: normal P-glycoprotein carries Gly185 with an altered pattern of multidrug resistance. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1989, 162, 1, p. 224–231.
19. Leopard, G. D., Fojo, T., Bates, S. E. The role of ABC transporters in clinical practice. *Oncologist*, 2003, 8, 5, p. 411–424.
20. Ling, V. Multidrug resistance: molecular mechanisms and clinical relevance. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1997, 40, Suppl, S3–S8.
21. Loo, T. W., Clarke, D. M. Reconstitution of drug-stimulated ATPase activity following co-expression of each half of human P-glycoprotein as separate polypeptides. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269, 10, p. 7750–7755.
22. Loo, T. W., Clarke, D. M. The human multidrug resistance P-glycoprotein is inactive when its maturation is inhibited: potential for a role in cancer chemotherapy. *Faseb. J.*, 1999, 13, 13, p. 1724–1732.

23. **Loo, T. W., Clarke, D. M.** The transmembrane domains of the human multidrug resistance P-glycoprotein are sufficient to mediate drug binding and trafficking to the cell surface. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 35, p. 24759–24765.
24. **Panwala, C. M., Jones, J. C., Viney, J. L.** A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, *mdr1a*, spontaneously develop colitis. *J. Immunol.*, 1998, 161, 10, p. 5733–5744.
25. **Potocnik, U., Ferkolj, I., Glavac, D., Dean, M.** Polymorphisms in multidrug resistance 1 (MDR1) gene are associated with refractory Crohn disease and ulcerative colitis. *Genes Immun.*, 2004, 5, 7, p. 530–539.
26. **Qi, J., Yang, C. Z., Wang, C. Y., Wang, S. B., Yang, M., Wang, J. H.** Function and mechanism of pyronaridine: a new inhibitor of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2002, 23, 6, p. 544–550.
27. **Randolph, G. J., Beaulieu, S., Pope, M. et al.** A physiologic function for p-glycoprotein (MDR-1) during the migration of dendritic cells from skin via afferent lymphatic vessels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95, 12, p. 6924–6929.
28. **Rosenberg, M. F., Callaghan, R., Ford, R. C., Higgins, C. F.** Structure of the multidrug resistance P-glycoprotein to 2.5 nm resolution determined by electron microscopy and image analysis. *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, 16, p. 10685–10694.
29. **Ruetz, S., Gros, P.** Phosphatidylcholine translocase: a physiological role for the *mdr2* gene. *Cell*, 1994, 77, 7, p. 1071–1081.
30. **Sakaeda, T., Nakanuta, T., Okumura, K.** MDR1 genotype-related pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Biol. Pharm. Bull.*, 2002, 25, 11, p. 1391–1400.
31. **Sauna, Z. E., Ambudkar, S. V.** Characterization of the catalytic cycle of ATP hydrolysis by human P-glycoprotein. The two ATP hydrolysis events in a single catalytic cycle are kinetically similar but affect different functional outcomes. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 15, p. 11653–11661. Epub 2001 Jan 11.
32. **Seelig, A.** A general pattern for substrate recognition by P-glycoprotein. *Eur. J. Biochem.*, 1998, 251, 1–2, p. 252–261.
33. **Schinkel, A. H., Mayer, U., Wagenaar, E. et al.** Normal viability and altered pharmacokinetics in mice lacking *mdr1*-type (drug-transporting) P-glycoproteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94, 8, p. 4028–4033.
34. **Sun, J., He, Z. G., Cheby, G., Wang, S. J., Hao, X. H., Zou, M. J.** Multidrug resistance P-glycoprotein: crucial significance in drug disposition and interaction. *Med. Sci. Monit.*, 2004, 10, 1, RA5–14.
35. **Trock, B. J., Leonessa, F., Clarke, R.** Multidrug resistance in breast cancer: a meta-analysis of MDR1/gp170 expression and its possible functional significance. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1997, 89, 13, p. 917–931.

Do redakce došlo 7. 4. 2006.

Adresa pro korespondenci:
Mgr. Kristina Pechandová
Farmakologický ústav 1. LF UK
Albertov 4
128 00 Praha 2
e-mail: pechandova@seznam.cz