

Expresse ABC transportérů Pgp, MRP1 a MRP3 u maligních a benigních změn vaječnicků

Expression of ATP-binding Cassette Proteins Pgp, MRP1, and MRP3 in Malignant and Benign Ovarian Lesions

Sedláková I.¹, Laco J.², Tošner J.¹, Špaček J.¹

¹ Porodnická a gynekologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

² Fingerlandův ústav patologie, LF UK a FN Hradec Králové

Souhrn

Východiska: Cílem této práce je porovnání exprese ABC transportérů P-glykoprotein (Pgp), multilékový rezistentní protein 1 (multidrug related protein – MRP) a MRP3 u pacientek s karcinomem ovaria, pacientek s benigní cystou ovaria a žen zdravých a zhodnocení vztahu exprese ABC transportérů s klinicko-patologickými parametry u pacientek s karcinomem ovaria. **Soubor pacientek a metodika:** Stanovení ABC transportérů (Pgp, MRP1, MRP3) bylo provedeno celkem u 212 vzorků pacientek operovaných na Porodnické a gynekologické klinice FN Hradec Králové. Pro zhodnocení exprese ABC transportérů byla použita metoda dvoustupňové imunohistochemie. **Výsledky:** Hodnoty ABC transportérů Pgp a MRP1 byly nejvyšší ve tkáni ovariálního karcinomu v porovnání s hodnotami v ovariální tkáni změněné benigní cystou a normální tkáni vaječnicku. Prakticky nulové hodnoty Pgp a MRP1 jsme zaznamenali ve zdravé tkáni vaječnicku. Pgp, MRP1 a MRP3 vykazovaly výrazné rozdíly hodnot v závislosti na histologickém typu ovariálního karcinomu. Nejnižší exprese Pgp a MRP1 byla zjištěna u endometroidního ovariálního karcinomu ($p = 0,151$; $p = 0,013$). Byl zaznamenán nárůst MRP1 od časných stadií (FIGO I + II) k pokročilému onemocnění (FIGO III + IV) – I + II 80 % (CI 60–100), III + IV 100 % (CI 90–100); $p = 0,100$. Stupeň diferenciace významně ovlivnil pouze hodnoty MRP1, které narůstaly směrem od dobře diferencovaného ke špatně diferencovanému karcinomu ovaria ($p < 0,001$). **Závěr:** Expresse proteinů rezistence vykazovala statisticky významné změny v patologicky změněné ovariální tkáni v porovnání s normální tkáni vaječnicků. Výrazná exprese ABC transportérů se objevila již ve výstelce benigní cysty vaječnicku. V normální tkáni vaječnicku byly jejich hodnoty prakticky nulové. ABC transportéry tedy pravděpodobně sehrávají významnou roli již v patogenezi karcinomu ovaria a jejich exprese je ovlivněna histologickým typem karcinomu ovaria.

Klíčová slova

ABC transportéry – karcinom ovaria – P-glykoprotein (Pgp) – multilékový rezistentní protein 1 (MRP1) – multilékový rezistentní protein 3 (MRP3) – chemorezistence

Práce byla podpořena MZ ČR NT 14107-3/2013.

This work was supported by the Czech Ministry of Health NT 14107-3/2013.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Iva Sedláková, Ph.D.

Porodnická a gynekologická klinika
LF UK a FN Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: iva.sedlakova@fnhk.cz

Obdrženo/Submitted: 9. 11. 2015

Přijato/Accepted: 30. 8. 2016

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016358>

Summary

Background: This study was designed to compare the expression of Pgp (P-glycoprotein), MRP1 (multidrug related protein), and MRP3 in ovarian cancer patients, patients with benign ovarian tumors, and healthy women, and to evaluate the correlation between the expression of ATP-binding cassette proteins Pgp, MRP1, and MRP3 with stage, grade, and histological type. **Patients and Methods:** Tissue specimens from 212 women who underwent surgery at the Department of Obstetrics and Gynecology at University Hospital Hradec Králové were subjected to immunohistochemical staining for Pgp, MRP1, and MRP3. **Results:** The expression of Pgp and MRP1 was higher in ovarian tumor cells than in the cells lining the ovarian cyst. The lowest level of expression was found in normal ovarian tissue ($p < 0.001$). Histological subtype of epithelial ovarian cancer correlated with the expression of Pgp, MRP1, and MRP3. The lowest level of Pgp and MRP1 expression was found in endometrioid ovarian cancers ($p = 0.151$; $p = 0.013$). Patients with advanced ovarian cancer (FIGO III + IV) had higher MRP1 expression than those with early stage ovarian cancer (median MRP1 FIGO I + II 80%; CI 60–100; FIGO III + IV 100%; CI 90–100; $p = 0.100$). An association was observed between MRP1 and tumor grade ($p < 0.001$). **Conclusion:** Pgp and MRP1 expression was higher in ovarian tumor cells than in cells lining the ovarian cyst. The lowest level of expression was found in normal ovarian tissue. ATP-binding cassette proteins play an important role in ovarian cancer pathogenesis.

Key words

ATP-binding cassette proteins – ovarian cancer – P-glycoprotein (Pgp) – multidrug related protein 1 (MRP1) – multidrug related protein 3 (MRP3) – drug resistance

Východiska

Karcinom ovaria je nejčastější příčinou úmrtí na gynekologické malignity. Přestože byla léčbě zhoubných nádorů ovaria věnována velká pozornost, výsledky přežití pacientek se za posledních 20 let zlepšily minimálně [1]. Hlavním klinickým problémem současné cytostatické léčby ovariálního karcinomu je léková rezistence na cytostatika (chemorezistence). Jejím následkem je selhání léčby [2]. Kompletní odpověď na primární chemoterapii je vysoká, mezi 50 a 70 %. Přesto 50–75 % pacientek s pokročilým ovariálním karcinomem onemocnění relabuje a dochází k vývoji lékové rezistence, zejména mnohočetné lékové rezistence (multidrug resistance – MDR) [3,4].

MDR lze klasifikovat jako vlastní nebo získanou. Vlastní MDR označuje rezistenci, kterou již nádorové buňky v době stanovení diagnózy disponují, a vede tedy k nárůstu přítomnosti MDR fenotypu. Získaná MDR vzniká, pokud se rezistence rozvine během chemoterapie [5]. Vznik MDR je multifaktoriální. Nadměrná exprese ABC transportérů je jedním z hlavních faktorů rozvoje MDR [6]. Skupina ABC transportérů (ATP-binding cassette proteins) je jednou z největších skupin transportérů. Transportéry této skupiny mají různé funkce. V současnosti je v lidském genomu známo 48 členů ABC a nadměrná exprese mnoha z nich vede k různým onemocněním. Několik členů ABC transportérů má schopnost vylučovat malé molekuly zahrnující pro-

tinádorová léčiva a tak přispívá k chemorezistenci. Tyto transportéry lze rozdělit do sedmi podskupin (A–G) na základě jejich strukturálních a sekvenčních podobností. Tři z těchto sedmi podskupin jsou běžně spojené s MDR. Jedná se o podskupinu B, která zahrnuje P-glykoprotein (Pgp) (multidrug related protein – MRP1, ABCB1), podskupinu C, která zahrnuje protein rezistence (MRP1, ABCC1) a podskupinu G, kam patří protein rezistence významný u karcinomu prsu (ABCG2) [7]. Úloha ABC transportérů v klinické rezistenci a zejména výskyt rezistence u chemonainvazivních pacientek se solidními nádory je stále předmětem mnoha diskuzí. Pouze tři (Pgp, ABCG2, MRP1) mají prokázáný vliv na lékovou rezistenci v klinických podmínkách spojovanou s MDR u nádorového onemocnění [8]. Kromě své role v lékové rezistenci jsou také exprimovány v nemaligních tkáních. Pravděpodobně jsou důležité při ochraně těchto tkání před akumulací xenobiotik a následnou toxicitou [9]. Jedním z nejlépe prozkoumaných a charakterizovaných ABC transportérů je Pgp, který byl objeven Julianem a Lingem kvůli své roli v rozvoji MDR u nádorových buněk [10]. Pgp je exprimován v apikálních membránách epitelálních buněk proximálních tubulů ledvin, plic, střev, jater, mikrovaskulárních endoteliích mozku, hematoencefalické bariéry, placenty, kůře nadledvin, testikulární bariéry, děloze, lymfocytech a hematopoetických buňkách [11]. Substráty Pgp je přítom řada protinádorových léčiv jako vinka-

-alkaloidy, antracykliny, taxany, kolchicin a actinomycin D [12]. Při zvýšené expresi Pgp mohou být taková léčiva za účasti transportní funkce Pgp předčasně vylučována z nádorových buněk, což může způsobit pokles účinku dané látky.

Další ABC transportér – MRP1 – je jedním z nejlépe charakterizovaných členů skupiny MRP. Byl identifikován týmem Cole et al v roce 1992 [13]. Hlavní fyziologickou funkcí MRP1 je pravděpodobně transport leukotrienu C4. MRP1 je exprimován ve většině tkání po celém těle, relativně vysoké hladiny se nacházejí v plicích, varlatech, ledvinách, skeletálních svalech a mononukleárech periferní krve. Na rozdíl od Pgp se nachází hlavně na bazolaterální membráně epitelálních buněk [14]. Endogenní exprese MRP1 může přispívat k bazální rezistenci buněčných linií na široké spektrum cytostatik [15,16].

Úloha ABC transportérů zejména v primární chemorezistenci u pacientek s karcinomem ovaria není zatím dostatečně objasněna. V naší práci se dlouhodobě zabýváme právě přirozenou (primární) chemorezistencí. Cílem této práce je zhodnocení exprese ABC transportérů Pgp, MRP1 a MRP3 v nádorových buňkách karcinomu vaječníku, ve výstelce benigní cisty vaječníku a normální tkáni vaječníku potvrzené histopatologicky. Dále pak zjištění vztahu exprese ABC transportérů se stadiem, stupněm diferenciace a histologickým typem ovariálního karcinomu.

Soubor pacientek a metodika

Soubor pacientek

Stanovení Pgp, MRP1, MRP3 jsme provedli u 133 vzorků epiteliálních ovariálních karcinomů u pacientek operovaných na Porodnické a gynekologické klinice FN Hradec Králové (PGK FNHK) v letech 2006–2013. Pacientky před danou operací neprodělaly chemoterapii ani žádnou jinou léčbu pro ovariální karcinom. Jednalo se o pacientky s nově zjištěným karcinomem ovaria – chemoinaivní. Žádná z těchto pacientek nebyla v minulosti léčena pro jiný karcinom. Všechny pacientky měly před operací podepsaný informovaný souhlas s odběrem vzorků tkáně schválený Etickou komisí FN Hradec Králové.

Průměrný věk testovaných pacientek byl 63,8 roku (min. 33, max. 89). Stadium bylo stanoveno dle FIGO klasifikace. Za časně onemocnění jsme považovali stadium I + II a za pokročilé onemocnění stadium III + IV. Jednalo se o 32 pacientek se stadiem I, sedm pacientek se stadiem II, 88 pacientek se stadiem III a šest pacientek se stadiem IV. Histopatologický typ ovariálního karcinomu byl stanoven dle WHO klasifikace. Dobře diferencovaný ovariální karcinom v tomto souboru mělo 14 pacientek, 22 pacientek středně diferencovaný ovariální karcinom a 91 pacientek špatně diferencovaný karcinom ovaria. U dvou pacientek byl diagnostikován nediferencovaný ovariální karcinom. U třech pacientek nebyl stupeň diferenciace určen. Serózní ovariální karcinom mělo 100 žen, mucinózní ovariální karcinom osm pacientek, endometroidní ovariální karcinom mělo 13 pacientek a sedm žen mělo světlobuněčný ovariální karcinom. Pacientky s jinými histologickými typy ovariálního karcinomu ani borderline tumory jsme do této práce nezahrnuli.

Pgp, MRP1 a MRP3 jsme dále stanovili u 45 vzorků benigních ovariálních cyst (ve výstelce cysty) pacientek operovaných na PGK FNHK v letech 2010–2013 pro benigní útvar na vaječnicích bez jiné současné gynekologické pooperační patologie. Histologicky se v této skupině jednalo o různé typy benigních cyst vaječnic. Dále pak jsme proteiny rezistence hodnotili v normální tkáni vaječnicku u 34 pacientek

operovaných na PGK FNHK v letech 2010–2013 pro sestup dělohy s jinak normálním gynekologickým nálezem potvrzeným histopatologicky bez jakékoli předchozí léčby pro malignitu.

Stanovení ABC transportérů Pgp, MRP1, MRP3

Pgp, MRP1 a MRP3 jsme stanovili standardním postupem dvoustupňovou imunohistochemií ve Fingerlandově ústavu patologie ve FN Hradec Králové. Materiál získaný při operaci byl po odběru rutinně fixován v 10% formalinu. Ve všech případech byl proveden standardizovaný odběr tkáně na histologické (a následně imunohistochemické) vyšetření. Byly odebrány vždy nejméně tři vzorky z nádoru (zpravidla jeden bloček na 1 cm nádoru) se zaměřením na pouzdro, případně periferii tumoru. Tkáňové bločky byly dále zpracovány standardní histologickou technikou a zalaty do parafinu. Z každého bločku byly krájeny řezy o tloušťce 2–3 mm. Tyto řezy byly použity jednak k rutinnímu barvení hematoxylinem-eozinem, jednak k imunohistochemickému vyšetření. Stanoven byl histologický typ nádoru a stupeň jeho diferenciace.

Parafinové bločky byly imunohistochemicky vyšetřeny za použití těchto primárních protilátek: Pgp (klon C494, LabVision, Fremont, USA, ředění 1 : 50), MRP1 (klon 33A6, Novocastra, Newcas-

tle upon Tyne, United Kingdom, ředění 1 : 100), MRP3 (klon DTX 1, Novocastra, ředění 1 : 100). Antigeny Pgp a MRP1 byly demaskovány inkubací v citrátovém pufru (pH 6) při teplotě 95 °C po dobu 30 min (Pgp), resp. 60 min. Protein MRP3 byl demaskován v pufru S 3308 (DakoCytomation, Glostrup, Dánsko) (pH 6) při teplotě 95 °C po dobu 60 min. K imunohistochemickému vyšetření byla použita nepřímá imunohistochemická metoda s použitím avidinbiotinového vizualizačního systému EnVision+ (DakoCytomation).

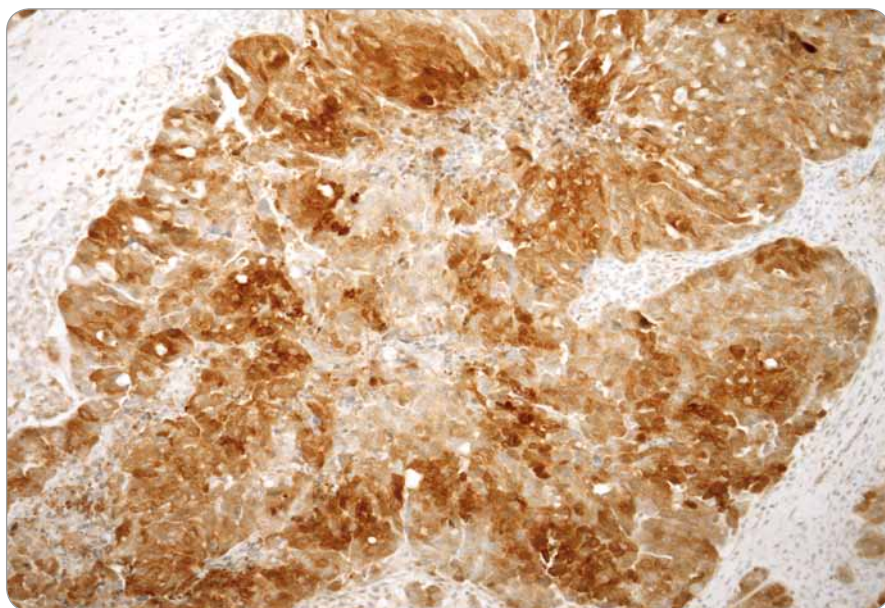
Ve světelném mikroskopu pak byla kvantitativně hodnocena pozitivita reakce, tj. procento pozitivních (hnědě zbarvených) nádorových buněk: Pgp – membránová, popř. i cytoplazmatická pozitivita, MRP1 – membránová, případně i cytoplazmatická pozitivita, MRP3 – membránová, případně i cytoplazmatická pozitivita (obr. 1–3).

Statistické zpracování

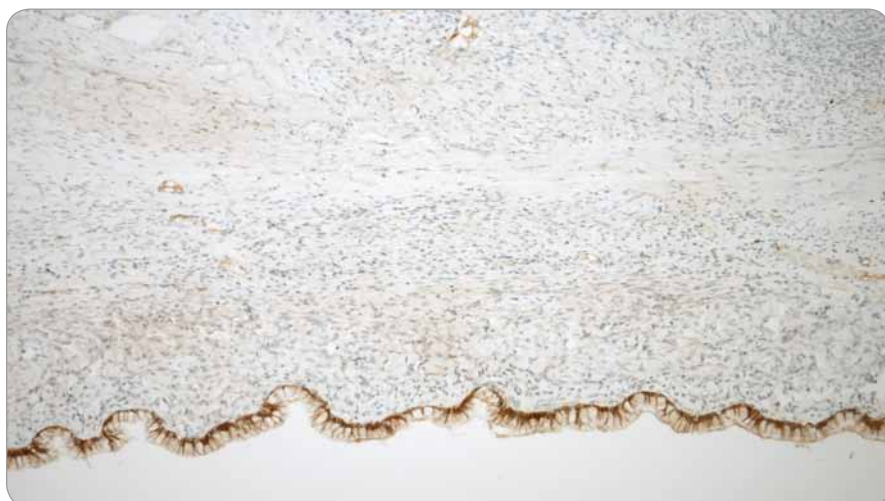
Pro popis souboru byly použity deskriptivní metody statistiky. Vzhledem k tomu, že byla u většiny případů zamítána normalita, použili jsme pro hodnocení střední hodnoty (medián – Med) a pro stanovení míry rozptylu jsme využili 95% CI. Porovnání jednotlivých skupin bylo provedeno neparametrickým Mann-Whitney U testem, případně Kolmogorov-Smirnov testem, v případě tří



Obr. 1. Difuzní exprese Pgp v nádorových buňkách high-grade serózního karcinomu ovaria (imunohistochemie, zvětšení 100x).



Obr. 2. Difuzní exprese MRP1 v nádorových buňkách high-grade serózního karcinomu ovaria (imunohistochemie, zvětšení 100×).



Obr. 3. Difuzní exprese MRP3 ve výstelce mucinózní cystadenomu (imunohistochemie, zvětšení 100×).

skupin byla použita Kruskal-Walisova ne-parametrická analýza rozptylu. Za statisticky významnou jsme považovali hladinu významnosti $p < 0,05$.

Výsledky

U pacientek s karcinomem ovaria ($n = 133$) jsme zjistili hodnoty Pgp Med 100 % (CI 95–100; $p < 0,0001$), MRP1 Med 90 % (CI 80–100; $p < 0,0001$), MRP3 Med 0 % (CI 0–0; $p < 0,0001$). Porovnání s pacientkami s benigní cystou ovaria: ($n = 45$) Pgp Med 100 % (CI 95–100; $p < 0,0001$), MRP1 Med 35 % (CI 10–80; $p < 0,0001$), MRP3 Med 0 % (CI 0–20;

$p < 0,0001$) a s ženami zdravými bez patologického nálezu na vaječnicích ($n = 34$) Pgp Med 0 % (CI 0–0; $p < 0,0001$), MRP1 Med 0 % (CI 0–0; $p < 0,0001$), MRP3 Med 0 % (CI 0–0; $p < 0,0001$) (tab. 1–3, graf 1).

Proteiny rezistence Pgp a MRP1 vykazovaly výrazné rozdíly hodnot v závislosti na histologickém typu ovariálního karcinomu. Serózní ovariální karcinom ($n = 97$) Pgp Med 100 % (CI 90–100; $p = 0,151$), MRP1 Med 100 % (CI 90–100; $p = 0,013$), MRP3 Med 0 % (CI 0–0; $p < 0,001$), mucinózní ovariální karcinom ($n = 8$) Pgp Med 100 % (CI 60–100;

$p = 0,151$), MRP1 Med 95 % (CI 40–100; $p = 0,013$), MRP3 Med 15 % (CI 0–60; $p < 0,001$), endometroidní ovariální karcinom ($n = 13$) Pgp Med 70 % (CI 10–100; $p = 0,151$), MRP1 Med 90 % (CI 20–100; $p = 0,013$), MRP3 Med 0 % (CI 0–0; $p < 0,001$), světlobuněčný ovariální karcinom ($n = 5$) Pgp Med 80 % (CI 20–100; $p = 0,151$), MRP1 Med 30 % (CI 0–90; $p = 0,013$), MRP3 Med 0 % (CI 0–10; $p < 0,001$). Patrný byl nárůst MRP1 od časných stadií (I + II) k pokročilému onemocnění (III + IV) – I + II 80 % (CI 60–100), III + IV 100 % (CI 90–100); $p = 0,100$. Stupeň diferenciace významně ovlivnil pouze hodnoty MRP1, které narůstaly směrem od dobře diferencovaného ke špatně diferencovanému karcinomu ovaria (G1 80 % (CI 0–100), G2 80 % (CI 30–100), G3 100 % (CI 90–100); $p < 0,001$).

Diskuze

Role ABC transportérů ve vzniku rezistence zatím nebyla přesně definována, hlavně kvůli potížím spojeným s kvantifikací úrovně exprese a aktivitou těchto ABC transportérů v tkáních tumoru ve srovnání s úrovní v normálních tkáních [17]. V naší práci jsme prokázali statisticky významné rozdíly exprese ABC transportérů v nádorových buňkách karcinomu vaječniku v porovnání s expresí ve výstelce benigní cysty a v normální tkáni vaječniku. Jaká je ve skutečnosti role ABC transportérů ve tkáni vaječnicku patologicky změněné ať už benigním, či maligním onemocněním, není v tuto chvíli vůbec jasné. O expresi ABC transportérů v nádorových buňkách karcinomu vaječniku se ví již delší dobu, i když i zde se dlouho poukazovalo na jejich roli pouze v souvislosti s objevením se chemorezistence po aplikaci cytostatik (tedy získané, sekundární). Charakteristika a popis vlastní (primární) chemorezistence se objevila až později a stále je zde mnoho kontroverzí. Proč se objevuje vyšší exprese Pgp a MRP1 již ve výstelce benigních cyst vaječnicku? Dle našich výsledků má větší význam pro vlastní chemorezistenci MRP1 a Pgp zase hraje důležitější roli již při změnách normální tkáně vaječnicku v benigní cystu a následně v karcinom vaječnicku. Jednoznačné rozdíly hodnot ABC transportérů v nádorových buňkách karcinomu vaječnicku v porovnání s expresí ve výstelce benigní cysty a v normální tkáni vaječnicku.

nomu ovaria v porovnání s jejich expresí ve výstelce benigních cyst a normální tkáni vaječnicku vykazovaly MRP1 a Pgp. MRP3 dle našich výsledků výraznější rozdíl v tomto smyslu nevykazuje.

Při stanovení rozdílu v expresi MDR1/Pgp mezi nádorovou tkání s párovou okolní tkání bez přítomnosti nádorových buněk u pacientek s karcinomem prsu pomocí PCR se objevila velká interindividuální variabilita mezi jednotlivými pacientkami. Při porovnání rozdílů exprese v obou typech tkání byla nalezena významně vyšší průměrná exprese MDR1/Pgp v nenádorové tkáni oproti nádorové [18]. Goff et al zjistili vyšší expresi Pgp v normální tkáni vaječnicku v porovnání s expresí v nádorových buňkách karcinomu vaječnicku. Naproti tomu zaznamenali minimální expresi MRP v normální tkáni vaječnicku v porovnání s MRP expresí u ovariálních karcinomů (66 vs. 7 %; $p = 0,001$) [19]. Izquierdo et al našli expresi MRP u 68 % epiteliálních ovariálních karcinomů stadia III a IV. Sledovali také expresi LRP (lung resistance protein), MRP a Pgp u ovariálních karcinomů a pouze LRP prokázali jako independentní prognostický faktor odpovědi na chemoterapii a přežití [20]. My jsme již dříve publikovali data o nevýznamném vztahu LRP u ovariálního karcinomu, proto již dále tento protein nesledujeme [21].

Goff et al neprokázali rozdíly v expresi MRP1 v závislosti na stadiu ovariálního karcinomu. My jsme zaznamenali nižší expresi MRP1 v nádorových buňkách časného stadia (I + II) v porovnání s vyšší expresí u pozdního stadia (III + IV) ovariálního karcinomu [20]. Nejvyšší hodnoty Pgp, MRP1 a MRP3 jsme zjistili u mucinózního ovariálního karcinomu v porovnání s ostatními histologickými typy. Nejnižší hodnoty jsme zaznamenali u endometroidního ovariálního karcinomu. I tyto výsledky by mohly souviset s dobrou klinickou odpovědí na primární chemoterapii u pacientek s endometroidním karcinomem ovaria v porovnání s horší klinickou odpovědí na standardní primární chemoterapii ve složení karboplatina/paclitaxel u pacientek s mucinózním karcinomem ovaria.

Pro posouzení významu míry exprese Pgp pro predikci úspěšnosti chemoterapie je rozhodujícím faktorem výběr cy-

Tab. 1. Expresie Pgp v nádorových buňkách karcinomu vaječnicku, ve výstelce benigní cysty vaječnicku a v normální tkáni vaječnicku ($p < 0,001$).

Pgp $p < 0,001$	Nádorové buňky karcinomu vaječnicku	Výstelka benigní cysty vaječnicku	Normální tkáň vaječnicku
n	133	45	34
průměrný věk	63,8	53,9	60,5
medián	100 %	100 %	0 %
průměr	75,5 %	92,2 %	0 %
CI	95–100 %	95–100 %	0–0 %
≤ 85	37,04 %	8,89 %	100 %
> 85	62,96 %	91,11 %	0 %

Pgp – P-glykoprotein

Tab. 2. Expresie MRP1 v nádorových buňkách karcinomu vaječnicku, ve výstelce benigní cysty vaječnicku a v normální tkáni vaječnicku ($p < 0,001$).

MRP1 $p < 0,001$	Nádorové buňky karcinomu vaječnicku	Výstelka benigní cysty vaječnicku	Normální tkáň vaječnicku
n	133	45	34
průměrný věk	63,8	53,9	60,5
medián	90 %	35 %	0 %
průměr	74,5 %	44,0 %	0 %
CI	80–100 %	10–80 %	0–0 %
≤ 85	42,45 %	71,43 %	100 %
> 85	57,55 %	28,57 %	0 %

MRP1 – multilékový rezistentní protein 1

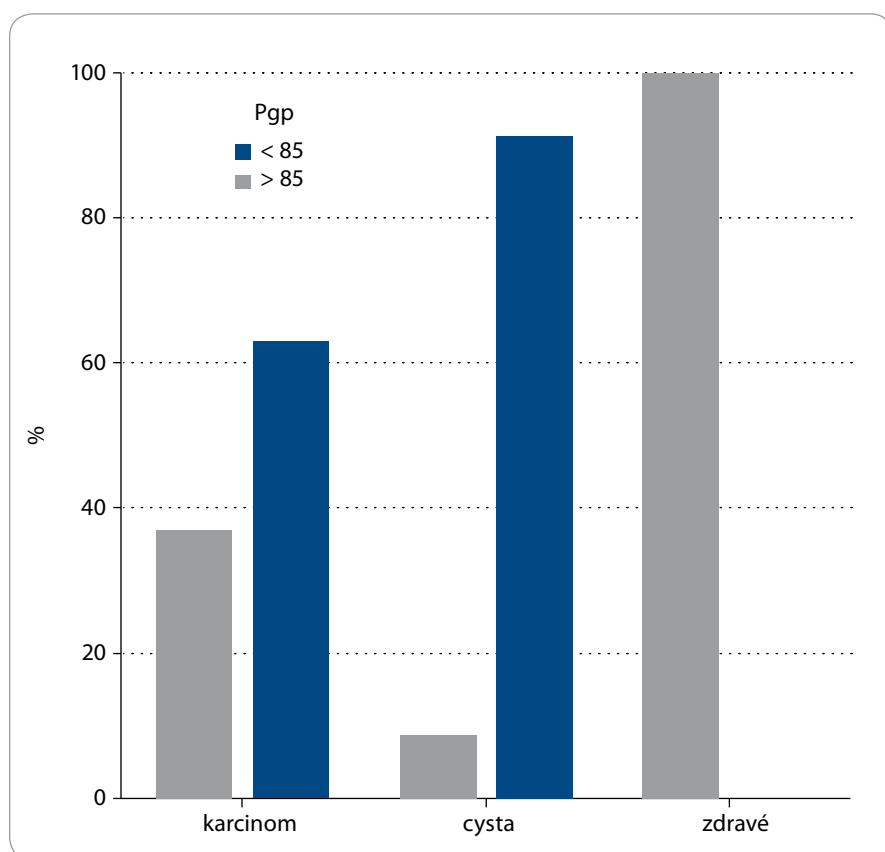
Tab. 3. Expresie Pgp v nádorových buňkách karcinomu vaječnicku, ve výstelce benigní cysty vaječnicku a v normální tkáni vaječnicku ($p < 0,001$).

MRP3 $p < 0,001$	Nádorové buňky karcinomu vaječnicku	Výstelka benigní cysty vaječnicku	Normální tkáň vaječnicku
n	133	45	34
průměrný věk	63,8	53,9	60,5
medián	0 %	0 %	0 %
průměr	8,2 %	26,6 %	0 %
CI	0–0 %	0–20 %	0–0 %
0 %	82,1 %	56,0 %	100 %
> 0 %	17,9 %	44,0 %	0 %

MRP3 – multilékový rezistentní protein 3

tostatika. V případě použití cytostatik, která jsou substráty Pgp, např. taxany, existuje předpoklad, že terapie může vést ke vzniku mnohočetné lékové rez-

stence. Díky případně zvýšené expresi Pgp mohou být taková léčiva za účasti transportní funkce Pgp předčasně vylučována z nádorových buněk, což může



Graf 1. Porovnání exprese Pgp v nádorových buňkách karcinomu vaječníku, ve výstelce benigní cesty vaječníku a v normální tkáni vaječníku ($p < 0,001$).

Pgp – P-glykoprotein

způsobit pokles účinku léčby [18]. V současnosti se uvádí souvislost hodnot Pgp především s chemorezistencí na taxany [22,23]. To může být dáno skutečností, že většina prací věnovaných proteinům rezistence u ovariálního karcinomu je prováděna na buněčných liniích [23–25]. V naší práci jsme hodnotili proteiny rezistence z jednotlivých vzorků získaných při operaci. Vzhledem k velké variabilitě dosud publikovaných výsledků vyplývá potřeba individuálního stanovení míry exprese ABC transportérů u konkrétních pacientek a nutnost dalších studií zejména s využitím tkáně jednotlivých solidních nádorů. Teprve potom se můžeme přiblížit ke skutečnému poznání významu ABC transportérů na vývoj a průběh maligních onemocnění.

Závěr

Expres proteinů rezistence vykazovala statisticky významné změny v patolo-

gicky změněné ovariální tkáni v porovnání s normální tkáni vaječníku. Výrazná exprese ABC transportérů se objevila i ve výstelce benigní cesty vaječníku. V normální tkáni vaječníku byly jejich hodnoty prakticky nulové. ABC transportéry tedy pravděpodobně sehrávají významnou roli již v patogenezi karcinomu ovaria a jejich exprese je ovlivněna histologickým typem karcinomu ovaria.

Literatura

- Cibula D, Petruželka L et al. Onkogynekologie. Praha: Grada Publishing 2009: 508.
- Fruehauf PJ, Alberts DS. In vitro drug resistance versus chemosensitivity: two sides of different coins. *J Clin Oncol* 2005; 23(15): 3641–3643.
- Ozols RF, Schwartz PE, Eifel PJ. Ovarian cancer, fallopian tube carcinoma and peritoneal carcinoma. In: De Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA (eds). *Cancer: principles and practice of oncology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven 2001:1597–1632.
- Nosková V, Hajdúch M, Mihál V et al. Mechanisms mnohočetné lékové rezistence a jejich význam pro klinickou praxi I: typická MDR. *Klin Onkol* 2000; 13 (Speciál 2): 4–9.
- Dean M, Fojo T, Bates S. Tumor stem cells and drug resistance in cancer. *Nat Rev Cancer* 2005; 5(4): 275–284.

- Scagliotti GV, Novello S, Selvaggi G. Multidrug resistance in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 1999; 10 (Suppl 5): 83–86.
- Borst P, Eferink RO. Mammalian ABC transporters in health and disease. *Annu Rev Biochem* 2002; 71:537–592.
- Ambudkar SV, Kimchi-Sarfaty C, Sauna ZE et al. P-glycoprotein: from genomics to mechanism. *Oncogene* 2003; 22(47): 7468–7485.
- Leslie EM, Deeley RG, Cole SP. Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 204(3): 216–237.
- Juliano RL, Ling V. A surface glykoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta* 1976; 455(1): 152–162.
- Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H et al. Expression of a multidrug-resistance gene product p-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84(21): 7735–7738.
- Kuwano M, Uchiumi T, Hayakawa H et al. The basic and clinical implications of ABC transporters, Y-box-binding protein-1 and angiogenesis-related factors in human malignancies. *Cancer Sci* 2003; 94(1): 9–14.
- Cole SP, Bhardwaj G, Gerlach JH et al. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science* 1992; 258(5088): 1650–1654.
- Evers R, Zaman GJ, van Deemter L et al. Basolateral localization and export activity of the human multidrug resistance-associated protein in polarized pig kidney cells. *J Clin Invest* 1996; 97(5): 1211–1218.
- Lorico A, Rappa G, Flavell RA et al. Double knockout of the MRP gene leads to increased drug sensitivity in vitro. *Cancer Res* 1996; 56(23): 5351–5355.
- Allen JD, Brinkhuis RF, van Deemter L et al. Extensive contribution of the multidrug transporters P-glycoprotein and MRP1 to basal drug resistance. *Cancer Res* 2000; 60(20): 5761–5766.
- Slot AJ, Molinski SV, Cole SP. Mammalian multidrug-resistance proteins (MRPs). *Essays Biochem* 2011; 50(1): 179–207. doi: 10.1042/bse0500179.
- Václavíková R, Hubáčková M, Kubala E et al. Expres genu mnohočetné lékové rezistence 1 (MDR1) a její význam v rozvoji a terapii karcinomu prsu. *Klin Onkol* 2007; 20(3): 253–259.
- Goff BA, Paley JP, Greer EB et al. Evaluation of chemoresistance markers in woman with epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2001; 81(1): 18–24.
- Izquierdo MA, van der Zee AG, Vermorken JB et al. Drug resistance-associated marker LRP for prediction of response to chemotherapy and prognosis in advanced ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87(16): 1230–1237.
- Sedláková I, Laco J, Tošner J et al. Proteiny rezistence LRP, Pgp, MRP1, MRP3 a MRP5 u pacientek s karcinomem ovaria. *Ceska Gynekol* 2013; 78(6): 545–553.
- Xing H, Wang S, Weng D et al. Knock-down of P-glycoprotein reverses taxol resistance in ovarian cancer multicellular spheroids. *Oncol Rep* 2007; 17(1): 117–122.
- Kamazawa S, Kigawa J, Kanamori Y et al. Multidrug resistance gene-1 is a useful predictor of paclitaxel-based chemotherapy for patients with ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2002; 86(2): 171–176.
- Scheffer GL, Kool M, Heijn M et al. Specific detection of multidrug resistance proteins MRP1, MRP2, MRP3, MRP5, and MDR3-P-glycoprotein with a panel of monoclonal antibodies. *Cancer Res* 2000; 60(18): 5269–5277.
- Odening KE, Rutz WL, Laufs S et al. Enhanced complement resistance in drug-selected P-glycoprotein expressing multi-drug-resistant ovarian carcinoma cells. *Clin Exp Immunol* 2008; 155(2): 239–248. doi: 10.1111/j.1365-2249.2008.03817.x.