

Udział polimorfizmów 3435C/T oraz 2677G/A,T genu ABCB1 w patogenezie i farmakoterapii raka płuca

The impact of ABCB1 3435C/T and 2677G/A,T polymorphisms on the pathogenesis and pharmacotherapy of lung cancer

Hanna Hołysz

Katedra i Zakład Chemii Klinicznej i Diagnostyki Molekularnej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Niedrobnokomórkowy rak płuca, ze względu na szybki rozwój w większości przypadków jest diagnozowany w wysokim stopniu zaawansowania, co uniemożliwia zastosowanie leczenia chirurgicznego. Zastosowana chemioterapia nie przynosi spodziewanych efektów m.in. ze względu na nabywanie przez komórki nowotworowe oporności wielolekowej. Jednym z czynników uczestniczącym w powstawaniu oporności wielolekowej jest białko ABCB1. Białko to odpowiedzialne jest za usuwanie z cytoplazmy ksenobiotyków/leków i w przypadku jego wysokiej aktywności powoduje brak efektu terapeutycznego. Zmiany w aktywności białka ABCB1 mogą być efektem polimorfizmów genu ABCB1. Postuluje się, że zamiana cytozyny na tyminę w pozycji 3435 (3435C/T) oraz guaniny na tyminę bądź adeninę w pozycji 2677 (2677G/T,A) może wpływać na ekspresję genu ABCB1 i w konsekwencji na aktywność białka. Jednak wyniki badań dotyczące udziału tych polimorfizmów w zachorowaniu na niedrobnokomórkowego raka płuca, w odpowiedzi na leczenie oraz wpływu tych polimorfizmów na intensywność efektów niepożądanych są sprzeczne i często zależne od badanej populacji. (*Farm Współ 2020; 13: 98-105*)

Słowa kluczowe: oporność wielolekowa, ABCB1, 3435C/T, 2677G/A,T, niedrobnokomórkowy rak płuca, terapia spersonalizowana

Abstract

Non-small-cell lung cancer is a rapidly developing cancer and in most cases is diagnosed in advanced stages, what makes surgical treatment impossible. Whereas chemotherapy does not bring the expected results due to, among others, multidrug resistance. One of the factors involved in the development of multidrug resistance is ABCB1 protein. This protein is responsible for the removal of xenobiotics/drugs from cytoplasm and leads to a lack of therapeutic effect. Changes in the activity of ABCB1 protein may be caused by polymorphisms of the ABCB1 gene. It is postulated that the substitution of cytosine to thymine at position 3435 (3435C/T) and guanine to thymine or adenine at position 2677 (2677G/T,A) may affect the ABCB1 gene expression and protein activity. However, the results of studies on the contribution of these polymorphisms to the incidence of non-small-cell lung cancer, response to treatment, and impact on adverse effects are contradictory and often dependent on the study population. (*Farm Współ 2020; 13: 98-105*)

Keywords: multidrug resistance, ABCB1, 3435C/T, 2677G/A,T, non-small-cell lung cancer, personalized therapy

Wprowadzenie

Rak płuca je najczęstszą przyczyną zgonów z powodu nowotworu, zarówno wśród mężczyzn, jak i wśród kobiet. W 2015 roku odnotowano około 1,7 mln zgonów na całym świecie. Szacuje się, że 5-letnie przeżycie wszystkich pacjentów z rakiem płuca (wszystkie typy histologiczne i stopnie zaawansowania) obserwuje

się u 20% chorych w populacji światowej (w Polsce około 13,5%) [1]. Przyczyną tak wysokiej śmiertelności jest późne wykrycie nowotworu wynikające z bezobjawowego przebiegu pierwszych etapów choroby. Wysoki stopień zaawansowania raka płuca, objawiający się dużym rozmiarem guza i obecnością przerzutów uniemożliwia zastosowanie leczenia chirurgicznego,

które jest najbardziej efektywnym sposobem leczenia. Ponadto około 85% przypadków raka płuca stanowi niedrobnokomórkowy rak płuca (NDRP), który rozwija się bardzo szybko i w większości przypadków diagnozuje się go w czwartym, najwyższym, stopniu zaawansowania [2]. W tym stadium niemożliwe jest zastosowanie leczenia chirurgicznego a zastosowana chemioterapia często charakteryzuje się niską skutecznością, wynikającą z szybkiego nabywania przez komórki nowotworowe oporności na stosowane leczenie. W związku z tym poszukuje się celowanych leków opartych na indywidualnej charakterystyce komórek nowotworowych z uwzględnieniem mutacji, polimorfizmów oraz ekspresji białek. Szybkie nabywanie przez komórki nowotworowe oporności na stosowane leczenie sugeruje udział białka ABCB1 (ang. *ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1 protein*) oraz mutacji/polimorfizmów genu *ABCB1* w odpowiedzi komórek raka płuca na stosowane leczenie oraz doboru terapii z użyciem inhibitorów ABCB1 [3].

Oporność komórek nowotworowych na leki

Celem terapii przeciwnowotworowej jest dostarczenie możliwie jak największej ilości leku o potencjale cytostatycznym/cytotoksycznym do komórki nowotworowej. W konsekwencji ma to doprowadzić do uszkodzeń istotnych elementów metabolizmu komórkowego i śmierci komórki nowotworowej [4]. Jednakże u niektórych pacjentów onkologicznych, po początkowej skuteczności terapii przeciwnowotworowej, obserwuje się obniżenie efektu terapeutycznego. Może to świadczyć o indukcji w komórkach nowotworowych mechanizmów warunkujących powstanie oporności wielolekowej MDR (ang. *Multidrug Resistance*). Mechanizm jej powstawania może mieć różne podłoże i polegać m.in. na aktywacji systemu naprawy DNA, hamowaniu apoptozy poprzez zmiany w ekspresji białka BCL lub mutacji w genie *p53* czy fosforylacji białka *p53*. Zjawisko MDR może też być wynikiem aktywacji mechanizmów uczestniczących w metabolizmie leków (transferaza S-glutationowa, cytochrom *p450*), zaburzenia równowagi redoks, zmniejszenia efektywności transportu leków do komórki czy zwiększenia ich usuwania poprzez transbłonowe pompy aktywnie transportujące ksenobiotyki/leki z wnętrza komórki do przestrzeni pozakomórkowej [5]. Ponadto indukcja oporności wielolekowej może wynikać ze zmian w strukturze receptora dla danego

leku. Zaobserwowano, że u pacjentów chorujących na niedrobnokomórkowego raka płuca z mutacją w genie kodującym receptor naskórkowego czynnika wzrostu *EGFR* (ang. *Epidermal Growth Factor Receptor*) po zastosowanym leczeniu inhibitorem EGFR dochodzi do mutacji w innej sekwencji genu *EGFR*, zmniejszenia efektu terapeutycznego i progresji choroby [6].

W wyniku ekspozycji komórek m.in. nowotworowych na ksenobiotyk/lek dochodzi do aktywacji jednego lub kilku mechanizmów, takich jak: upośledzenie gromadzenia leków w komórkach, aktywacja cytochromów *p450*, *CYP3A4/5*, *CYP2C8* oraz procesów naprawczych DNA, zmiana ilości i powinowactwa enzymów docelowych dla cytostatyków czy zaburzenie regulacji apoptozy [6]. W konsekwencji może to prowadzić do tzw. oporności krzyżowej, czyli oporności na należący do innej grupy związków lek, który może się charakteryzować inną strukturą czy odmiennym mechanizmem działania [7].

Wykazano, że w wyniku ekspozycji na chemioterapeutyki dochodzi do szeregu zmian w funkcjonowaniu komórek, które mają doprowadzić do ich śmierci. Z drugiej strony, komórki nowotworowe aktywują mechanizmy, m.in. aktywują białka transportujące, mające na celu ochronę przed toksycznym działaniem leków. Badania wykazały, że w procesie transportu ksenobiotyków/leków uczestniczą przede wszystkim trzy białka z rodziny białek ABC: ABCB1, ABCC1 oraz ABCG2 [8]. Jednakże najbardziej istotnym transporterem wydaje się być ABCB1. Białko to jest przezbłonowym transporterem odpowiedzialnym za usuwanie z cytoplazmy ksenobiotyków/leków. Zaobserwowano, że w wielu komórkach nowotworowych aktywność białka jest wyższa względem komórek prawidłowych [9]. Ponadto w niektórych typach nowotworu, przy pierwotnie niskiej aktywności białka ABCB1, dochodzi do jego aktywacji w wyniku ekspozycji na lek. Jednakże u niektórych pacjentów oraz w niektórych modelach komórkowych, mimo ekspozycji komórek na leki/chemioterapeutyki np. paklitaksel, cisplatynę, docetaksel i spodziewanej tym samym indukcji aktywności ABCB1, nie jest ona obserwowana. Może to wynikać z mutacji w genie *ABCB1* i tym samym modyfikacji odpowiedzi na chemioterapeutyki [7].

Budowa i funkcja białka ABCB1

Białko ABCB1, do niedawna zwane było glikoproteiną P (ang. *P glycoproteine*; Pgp) lub białkiem oporności wielolekowej (ang. *Multidrug Resistance*

Protein 1; MDR1), należy do rodziny białek ABC (ang. *ATP-binding cassette*). W związku z tym, w swojej strukturze zawiera kasetę wiążącą ATP, a transport substratu jest zależny od hydrolizy ATP. Białko to ma masę cząsteczkową 170 kDa i jest usytuowane przede wszystkim w błonie komórkowej, ale także w wielu kompartmentach wewnątrzkomórkowych, takich jak lizosomy, peroksosomy [9], retikulum endoplazmatyczne czy aparat Golgiego [10]. Białko ABCB1 zbudowane jest z 1280 aminokwasów, które tworzą dwie homologiczne domeny: domenę NBD łączącą nukleotydy (ang. *Nucleotide Binding domain*) i domenę TMD usytuowaną w części przezbłonowej (ang. *Transmembrane domain*). Obydwie domeny połączone są mostkiem polipeptydowym [11] i układają się cylindrycznie względem siebie. W części środkowej białka znajduje się hydrofilowy kanał o średnicy 5 nm skierowany do wnętrza komórki. Natomiast zewnątrzkomórkowa część białka ABCB1 pozostaje zamknięta aż do momentu przyłączenia substratu i tym samym aktywacji białka. Przyłączenie substratu do domeny NBD umożliwia przyłączenie się cząsteczek ATP, ich hydrolizę i dimeryzację domen NBD [12]. Następnie, dzięki energii wytworzonej z hydrolizy ATP, dochodzi do rozerwania połączeń pomiędzy domenami TMD, co umożliwia wytworzenie kanału skierowanego na zewnątrz komórki i usunięcie substratu. W kolejnym etapie ATP ulega hydrolizie i uwolnieniu w postaci ADP do cytoplazmy a białko ABCB1 wraca do swojej wyjściowej konformacji [13].

W domenie NBD wyodrębniono dwa, charakterystyczne dla tej domeny, wysoce konserwatywne motywy: Walkera A i B oddzielone od siebie fragmentami polipeptydowymi o długości 90-120 aminokwasów [14]. Motyw Walkera A odpowiedzialny jest za łączenie ATP, a w miejscu występowania motywu Walkera B dochodzi do nukleofilowego ataku na ATP i jego hydrolizy [13].

Transbłonowa domena TMD, która bezpośrednio uczestniczy w transporcie substratu z cytozolu do przestrzeni zewnątrzkomórkowej jest zbudowana

z 6 fragmentów alfa-helikalnych. Struktury helikalne domeny TMD warunkują specyficzność substratową transportera i aktywowane są przy udziale kinaz białkowych A i C (ang. *protein kinase A* i PKC ang. *protein kinase C*; PKA) [15].

Białko ABCB1 odpowiedzialne jest przede wszystkim za detoksykację komórki i transportuje substancje o wielkości od 376 Da do 3259 Da mające charakter hydrofobowy czy obojętny a także jony dodatnie. Mimo że białko ABCB1 może transportować substraty z cytoplazmy do przestrzeni pozakomórkowej to powinowactwo substratu do białka jest znacznie większe w momencie wnikania do błony komórkowej. W związku z tym białko ABCB1 usuwa ksenobiotyki jeszcze zanim przedostaną się one do cytoplazmy. Ponadto substraty ABCB1 obecne w cytoplazmie mogą być transportowane do przestrzeni pozakomórkowej, jak i do organelli komórkowych uczestniczących w detoksykacji komórki (lizosomy, peroksosomy), zabezpieczając komórkę przed toksycznym działaniem ksenobiotyków. Fizjologiczną funkcją ABCB1 jest usuwanie przede wszystkim toksyn, ale i substancji odżywczych z wnętrza komórek. W związku z tym występuje w komórkach wyścielających przewód pokarmowy, pęcherz moczowy, łożysko, śródbłonek naczyń krwionośnych, narządy wydzielania wewnętrznego a także płuca i oskrzela. W pęcherzykach płucnych oraz w pozostałych częściach układu oddechowego zabezpiecza płuca przed toksycznym działaniem ksenobiotyków obecnych w powietrzu [16]. Nadekspresję białka ABCB1 obserwuje się także na powierzchni komórek nowotworowych, które w wyniku ekspozycji na chemioterapeutyki zwiększają ekspresję genu *ABCB1* i tym samym zmniejszają efektywność działania danego leku oraz szeregu innych leków, będących w spektrum substratowym białka. Szereg leków stosowanych w terapii nowotworów, w tym także raka piersi, znajduje się w spektrum substratowym białka ABCB1 (Tabela I), co może tłumaczyć obserwowany u niektórych pacjentów brak efektu terapeutycznego.

Tabela I. Wykaz leków stosowanych w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuca będących i niebędących substratami ABCB1 [6]

Table I. List of drugs used in the treatment of non-small-cell lung cancer which are or not ABCB1 substrates [6]

Nazwa leku	Charakterystyka
Substraty ABCB1	
Nintedanib	Inhibitor kinaz, w leczeniu NDRP w kombinacji z docetakselem
Ozymertynib	Trzecia generacja inhibitorów receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR)

Kryzotynib	Inhibitor EGFR, możliwe wykorzystanie u pacjentów z fuzją EML4-ALK.
Cerytynib	Stosowany jako lek drugiego rzutu przy braku skuteczności bądź tolerancji kryzotynibu. Bloker kinazy ALK.
Winorelbina	Cytostatyk o działaniu przeciwnowotworowym z grupy inhibitorów barwnika. Hamuje polimeryzację tubuliny.
Erlotynib	Inhibitor EGFR. Hamuje fosforylację receptora. Najnowsze badania wskazują wykorzystanie leku jako inhibitor zmutowanej formy kinazy tyrozynowej JAK2V617F.
Docetaksel	Działa poprzez pobudzenia łączenia tubuliny w trwałe mikrotubule i hamowanie ich rozpadu. Łączy się z tubuliną w stosunku 1:1
Winblastyna	Cytostatyk o działaniu przeciwnowotworowym z grupy inhibitorów barwnika. Hamuje bądź zaburza mitozę. Zwalnia wbudowywanie do komórek kwasu glutaminowego i argininy.
Paklitaksel	Przyspiesza dimeryzację tubuliny i przyspiesza powstawanie mikrotubul. Stabilizuje mikrotubule i zapobiega przed ich depolimeryzacją. Hamuje reorganizację mikrotubule i podział komórki.
Irynotekan	Półsyntetyczna pochodna kamptotecyny, inhibitor topoizomerazy I DNA. Blokuje powstanie widełek replikacyjnych i w efekcie podział komórki.
Afatynib	Silny, selektywny i nieodwracalny inhibitor receptorów EGFR (ErbB1), HER2 (ErbB2), ErbB3, ErbB4. U pacjentów z NDRP stosowany po uprzedniej identyfikacji mutacji EGFR.
Etopozyd	Alkaloid roślinny, pochodna podofilotoksyny. Hamuje syntezę DNA poprzez interakcję z topoizomerazą I. Stymuluje tworzenie się wolnych rodników.
Gemcytabina	Analog pirymidyny. Hamuje syntezę DNA oraz uniemożliwia przejście komórki z granicy faz G1 do S.
Leki nie będące substratami ABCB1	
Pemetreksed	Analog kwasu foliowego. Hamuje aktywność podstawowych enzymów wykorzystywanych w biosyntezie nukleotydów purynowych i pirymidynowych tj. syntezę tymidylową, reduktazę dihydrofolanową i formylotransferazę rybonukleotydu glicynoamidowego
Necitumumab	Inhibitor EGFR. Łączy się z receptorem i uniemożliwia przyłączenie substratu i w konsekwencji podział komórki.
Karboplatyna	Lek przeciwnowotworowy; pochodna platyny zawierająca centralny atom platyny. Indukuje wytwarzanie wiązań krzyżowych między dwoma niciami DNA, modyfikuje strukturę i zaburza syntezę DNA
Selumetinib* Mitometh* Picropodophyllin* Emibetuzumab* Naquotinib* Rabusertib* Elacytarabine* Lifastuzumab wdotyna Naptumomab estafenatox* Seliciclib Sonolisib* Anetumab ravtansine Lumretuzumab Antroquinonol* Rociletinib Patritumab Rilotumumab	Przykładowe leki przeciwnowotworowe przeciw NDRP w fazie badań klinicznych. Ich transport poprzez białko ABCB1 nie został jeszcze udowodniony.

*leki w fazie badań klinicznych bez polskiego odpowiednika nazwy

Gen ABCB1

U ludzi gen kodujący białko ABCB1 nosi nazwę ABCB1, zlokalizowany jest na długim ramieniu chromosomu 7 (7q21.12) i składa się z dwóch regionów

promotorowych (bliższego i dalszego) oraz 28 eksonów, a długość całego genu wynosi 209 kbp [14]. Gen ABCB1 należy do grupy genów, które w obrębie części bliższej promotora nie zawierają sekwencji TATA, jednakże

zawiera odwróconą sekwencję CCAAT (w pozycji -82 do -73), do której przylączają się czynniki transkrypcyjne: YB-1 zawierający domenę Y (ang. *Y-box binding protein*) oraz czynnik jądrowy NF-Y (ang. *Nuclear factor Y*). Ponadto w promotorze genu *ABCB1* zlokalizowane są sekwencje bogate w pary GC (fragment od -56 do -43) wrażliwe na czynniki transkrypcyjne z rodziny Sp. Wykazano także, że ekspresja genu *ABCB1* może być regulowana przez: białko odpowiedzi wczesnego wzrostu EGR1 (ang. *Early growth response factor-1*), jądrowy czynnik dla interleukiny 6 NF-IL6 (ang. *Nuclear factor for interleukin-6*), jądrowy czynnik NF-R2 (ang. *Nuclear factor-erythroid 2-related factor*), receptor dla steroidów i ksenobiotyków SXR/PXR (ang. *Steroid and Xenobiotic receptor*) a także insulinę, naskórkowy czynnik wzrostu EGF, czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF alfa), białko szoku cieplnego HSP (ang. *Heat shock proteins*) [17].

Udział wybranych polimorfizmów genu *ABCB1* w terapii niedrobnokomórkowego raka płuca

Postuluje się, że polimorfizmy genowe mogą z jednej strony regulować poziom ekspresji genu i w efekcie powodować wzrost lub spadek ilości białka, a z drugiej strony mogą przekładać się na zmianę sekwencji aminokwasowej białka i tym samym na zmianę jego aktywności, przy niezmienionej ekspresji genu. W związku z tym, w przypadku polimorfizmów w genie *ABCB1* może dojść do kumulacji ksenobiotyków/leków w komórce i transformacji nowotworowej, a także do zmiany w farmakokinetyce leków w wyniku ich nadmiernego usuwania z komórki.

Wśród polimorfizmów *ABCB1* największą uwagę skupiają dwa: zamiana cytozyny na tyminę w pozycji 3435 (3435 C/T, rs1045642) oraz zamiana guaniny na tyminę bądź adeninę w pozycji 2677 (2677 G/A,T, rs2032582) [18].

Polimorfizm 3435 C/T, zlokalizowany jest w eksonie 26 genu *ABCB1*, jest zmianą synonimiczną w kodonie dla izoleucyny zlokalizowanej w pozycji 1145 białka *ABCB1*. Obecność allelu T w pozycji 3435 genu *ABCB1* nie zmienia sekwencji aminokwasowej, ale może wpływać na zmianę w procesie składania mRNA, fałdowania białka czy modyfikacji potranslacyjnych [19] i w efekcie na aktywność białka. Jednakże wyniki badań wskazują, że efekt, jaki wykazuje polimorfizm na funkcjonowanie białka jest często zależny od rodzaju tkanki oraz populacji badanej. Wykazano, że

obecność haplotypu TT koreluje z niższym poziomem białka *ABCB1* w łożysku, wątrobie i leukocytach. Nie zaobserwowano takiej zależności w sercu i jelicie grubym. Zaobserwowano natomiast korelację pomiędzy obecnością allelu T a dwukrotnym spadkiem ilości białka *ABCB1* w jelicie cienkim [20].

W badaniach wśród populacji polskiej wykazano, że allel T występuje u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca częściej niż u osób zdrowych. Szacuje się, że ryzyko wystąpienia tego typu nowotworu u osób z genotypem 3435TT jest 5,78 razy większe niż w pozostałych genotypach [21]. Podobne wyniki uzyskali Subhani i wsp, którzy wskazują na 5,23 razy większe ryzyko zachorowania na NDRP u osób będących homozygotami TT [22]. Z drugiej strony Sinues i wsp. oraz Gervasini sugerują odwrotną zależność. W badaniach przeprowadzonych na populacji hiszpańskiej wykazano, że allel C częściej występuje u osób z rakiem płuca, jednakże różnice nie były istotne statystycznie [23,24].

Sugeruje się także, że obecność poszczególnych alleli polimorfizmu 3435C/T może korelować z długością życia pacjentów z NDRP. Wynika to z modyfikacji aktywności i ilości *ABCB1*, będącej efektem polimorfizmu w eksonie 26 (3435C/T). U pacjentów z rakiem płuca będących homozygotami CC zaobserwowano, że pole powierzchni pod krzywą AUC (ang. *Area Under Curve*) dla irynotekanu było większe o 20% niż u homozygot TT [25], co świadczy o wyższym stężeniu leku w organizmie i tym samym o prawdopodobnie lepszej odpowiedzi na leczenie. W efekcie wykazano, że czas wolny od progresji choroby pacjentów chorujących na NDRP leczonych paklitakselem jest znacząco dłuższy u homozygot CC (14,13 miesiąca) niż u homozygot TT (3,87 miesiąca) [26]. Z drugiej jednak strony w badaniach przeprowadzonych wśród populacji japońskiej nie wykazano wpływu polimorfizmu 3435C/T na efektywność leczenia i długość życia pacjentów z NDRP leczonych paklitakselem [27]. Natomiast u homozygot TT leczonych docetakselem wykazano wyższe stężenie leku wyrażone większą powierzchnią pod krzywą AUC, co sugerowałoby udział polimorfizmu w klinicznej odpowiedzi na leczenie [26]. Z drugiej strony badania prowadzone w populacji chińskiej wskazują odwrotną zależność i korzystny wpływ allelu C w odpowiedzi na leczenie docetakselem i cisplatyną. U 50% chorych (3435CC) leczonych tą kombinacją leków zaobserwowano odpowiedź kliniczną. Natomiast wśród homozygot

TT i heterozygot CT efekt leczenia był obserwowany u 19% chorych [28].

Ponadto pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca posiadających mutację w receptorze EGFR leczonych erlotynibem oceniono pod kątem obecności polimorfizmu 3435C/T i nie wykazano zależności pomiędzy polimorfizmem *ABCB1* a odpowiedzią na leczenie. Ze względu na to, że nowotwór płuca często wykazuje przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego oceniono także udział tego polimorfizmu w biodostępności leku do OUN (ośrodkowy układ nerwowy). Jednakże nie wykazano istotnych statystycznie różnic w stężeniu erlotynibu w płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów o różnym genotypie [29]. Podobne wyniki uzyskano analizując wpływ polimorfizmu 3435C/T na kinetykę gefitynibu. Nie wykazano zależności pomiędzy polimorfizmem 3435C/T a obecnością działań niepożądanych leczenia [30-32].

Wydaje się jednak, że polimorfizm 3435C/T genu *ABCB1* dosyć istotnie koreluje z wystąpieniem działań niepożądanych leczenia raka płuca, a genotypowanie pacjentów może być przydatne w monitorowaniu leczenia. Wyniki badań wskazują, że u pacjentów z NDRP będących homozygotami TT leczonych paklitakselem statystycznie częściej występuje, jako działanie niepożądane leczenia, zapalenie nerwu wzrokowego (u 88,2% pacjentów) [26], a po podaniu iryrotekanu częściej obserwuje się biegunki 3. stopnia (u 27% pacjentów) [25]. Natomiast neutropenię statystycznie częściej obserwuje się u chorych leczonych docetakselem [30,31], a wysypkę po podaniu erlotynibu (TT 60,4% vs. CC 39,6%) [29].

Wydaje się, że polimorfizm 3435C/T może stać się markerem diagnostycznym zachorowania na NDRP w populacji polskiej. Jednakże badania prowadzone przez Zawadzka i wsp. [21] wymagają kontynuacji na większej liczbie pacjentów. Ponadto wyniki badań dotyczących udziału tego polimorfizmu w odpowiedzi na leczenie i długość życia pacjentów są sprzeczne i często zależne od populacji. W związku z tym postuluje się, że inny polimorfizm, w pozycji 2677 genu *ABCB1* może uczestniczyć zarówno w patogenezie raka płuca, jak i jego leczeniu. Polimorfizm ten jest zmianą tryallelową, gdzie guanina ulega zamianie w tyminę bądź adeninę. W konsekwencji w pozycji 893 białka dochodzi do zamiany alaniny na serynę (G>T) bądź treoninę (G>A). Aminokwas ten znajduje się w części transbłonowej domeny TMD, która

odpowiada za specyficzność substratową transportera i warunkuje przekazywanie substratu do przestrzeni pozakomórkowej. Zatem obecność allelu T lub A może zaburzać funkcje transportera i sprzyjać kumulacji ksenobiotyków m.in. w komórkach płuc i doprowadzać do transformacji nowotworowej. Wykazano, że rak płuca częściej diagnozuje się u pacjentów będących homozygotami TT (43,8%) niż homozygotami GG (16,3%) [24]. Ponadto obecność allelu T u osób z NDRP jest także niekorzystnie rokującym parametrem. Średni czas przeżycia pacjentów z tym nowotworem będących homozygotami TT wynosi 4,37 miesiąca, heterozygotami GT 9,73 miesiąca a homozygotami 12,1 miesiąca [26]. Z drugiej jednak strony Park i wsp. wykazali odwrotną zależność. Zaobserwowali, że u pacjentów z zaawansowanym NDRP będących homozygotami 2677TT lub heterozygotami 2677TA/TG całkowity czas przeżycia jest dłuższy (4,2 miesiąca) niż u pozostałych genotypów (3,6 miesiąca) [33]. Różnice te mogą wynikać z zastosowanego leczenia oraz wystąpienia działań niepożądanych. U pacjentów, których leczono paklitakselem i karboplatiną zaobserwowano, że homozygoty (2677TT, 2677AA) i heterozygoty (2677TA/TG/AG) mają więcej działań niepożądanych (anemia, trombocytopenia, neutropenia i neuropatia) niż homozygoty (2677GG) [33]. Jednakże wyższe stężenie iryrotekanu obserwuje się u homozygot GG i w konsekwencji u tych pacjentów częściej obserwuje się działania niepożądane leczenia (np. neutropenię) [25,34]. Także u pacjentów leczonych docetakselem i cisplatiną lepsze efekty kliniczne leczenia obserwuje się u homozygot GG. U 58% pacjentów o takim genotypie wykazano zmniejszenie guza pierwotnego po zastosowanym leczeniu, natomiast u pozostałych genotypów tylko u 28,6% [28]. Analiza udziału polimorfizmu 2677G/A,T w odpowiedzi na leczenie gefitynibem wykazała, że pacjenci z mutacją w EGFR będący homozygotami AA i TT mają wyższe stężenie leku niż homozygoty GG i heterozygoty [32]. Jednakże pozostałe wyniki badań nie wskazują na udział tego polimorfizmu w odpowiedzi na leczenie, długości życia pacjentów i stopniu nasilenia działań niepożądanych [31]. Aczkolwiek u pacjentów, u których obserwowano wiele działań niepożądanych (biegunka, mdłości, wysypka, hepatotoksyczność), niezależnie od genotypu, stężenie leku było wysokie [31]. Rozbieżność badań dotycząca udziału polimorfizmów *ABCB1* w patogenezie raka płuca oraz odpowiedzi na terapię przeciwnowotworową może wynikać z tego, że w więk-

szości badań analizuje się jeden z polimorfizmów. Możliwe zatem, że dopiero jednoczesne wystąpienie poszczególnych genotypów obydwu polimorfizmów może dawać możliwy do zaobserwowania efekt kliniczny w postaci większego ryzyka choroby czy lepszej odpowiedzi na terapię.

Analiza haplotypu 2677GG/3435TT wykazała, że taki genotyp koreluje ze znacząco wyższą biodostępnością leków, np. podanej doustnie digoksyny, podczas gdy forma 2677GG/3435CC powoduje obniżoną biodostępność leku [11]. W związku z tym możliwe, że genotypy te mogą także korelować z odpowiedzią na leczenie chemioterapeutykami stosowanymi w leczeniu raka płuca. Wykazano, że pacjenci z NDRP o haplocie 2677T/A/3435T, w wyniku szybszej eliminacji leków, mają krótszy czas przeżycia niż 2677G/3435C (3,87 vs. 12,1, $p = 0,03$) [26]. Ponadto kliniczny efekt leczenia docetakslem i cisplatyną częściej (u 72,7% pacjentów) obserwuje się u pacjentów z haplotypem dzikim [26]. Analiza haplotypu uwzględniająca 3 polimorfizmy 1236C/T, 2677G/A,T oraz 3435C/T wykazała różnicę w częstości występowania biegunek u pacjentów z allelami polimorficznymi względem pacjentów posiadających allele dzikie (76,6 vs. 23,1%).

Jednakże nie wykazano podobnej zależności pomiędzy tym haplotypem a wystąpieniem wysypki u pacjentów z NDRP leczonych erlotynibem [29]. Możliwe zatem, że wystąpienie alleli polimorficznych trzech polimorfizmów koreluje z mniejszą aktywnością bądź ilością białka i wyższą kumulacją leków. Analiza haplotypu 1236T/2677T/3435T genu *ABCB1* wykazała zależność pomiędzy polimorfizmami a działaniami niepożądanymi gefitinibu czy erlotynibu, która może być wynikiem większej kumulacji leku [35,36].

Konflikt interesów / Conflict of interest
Brak/None

Adres do korespondencji / Correspondence address
✉ Hanna Hołysz
Katedra i Zakład Chemii Klinicznej i Diagnostyki Molekularnej
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49; 60-355 Poznań
☎ (+48 61) 869 15 49
✉ hannak@ump.edu.pl

Piśmiennictwo/References

- Zyśk R, Krzakowski M. Personalised treatment of non-small-cell lung cancer patients – review of current evidence. *Oncol Clin Pr.* 2018;14(1):23-4.
- Kutkowska IJ, Porębska AR. Niedrobnokomórkowy rak płuca – mutacje, celowane i skojarzone terapie. *Postępy Hig Med Dosw.* 2017;71:431-45.
- El-Awady R, Saleh E, Hashim A i wsp. The role of eukaryotic and prokaryotic ABC transporter family in failure of chemotherapy. *Front Pharmacol.* 2017;7:1–15.
- Banerjee M, Chattopadhyay S, Choudhuri T i wsp. Cytotoxicity and cell cycle arrest induced by andrographolide lead to programmed cell death of MDA-MB-231 breast cancer cell line. *J Biomed Sci.* 2016;23(1):23-40.
- An X, Sarmiento C, Tan T i wsp. Regulation of multidrug resistance by microRNAs in anti-cancer therapy. *Acta Pharm Sin B.* 2017;7(1): 38-51.
- Mok TS, Wu YL, Ahn MJ i wsp. Osimertinib or platinum-pemetrexed in EGFR T790M-Positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2017;376(7): 629-40.
- Razi B, Anani Sarab G, Omidkhoda A, et al. Multidrug resistance 1 (MDR1/ABCB1) gene polymorphism (rs1045642 C > T) and susceptibility to multiple myeloma: a systematic review and meta-analysis. *Hematology.* 2018;23(8):456–62.
- Ye Q, Liu K, Shen Q, et al. Reversal of multidrug resistance in cancer by multi-functional flavonoids. *Front Oncol.* 2019;9(487):1–16.
- Katayama K, Khyati K, Ohnuma S i wsp. Revealing the fate of cell surface human P-glycoprotein (ABCB1): The Lysosomal Degradation Pathway. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1853:2361-70.
- Fu D, Arias IM. Intracellular trafficking of P-glycoprotein. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012;44(3):461-4.
- Kim RB, Leake BF, Choo EF i wsp. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;70(2):189-99.
- Pan L, Aller SG. Allosteric Role of Substrate Occupancy Toward the Alignment of P-glycoprotein Nucleotide Binding Domains. *Sci Rep.* 2018;8(1):1-14.
- Fortuna A, Alves G, Falcão A. In vitro and in vivo relevance of the P-glycoprotein probe substrates in drug discovery and development: Focus on Rhodamine 123, Digoxin and Talinolol. *J Bioequiv Availab.* 2011;01(02):2-24.

14. Aller SG, Yu J, Ward A i wsp. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science*. 2009;323(5922):1718-22.
15. Tulsyan S, Mittal RD, Mittal B. The effect of ABCB1 polymorphisms on the outcome of breast cancer treatment. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2016;9:47-58.
16. Campbell L, Abulrob ANG, Kandalaf LE i wsp. Constitutive expression of P-glycoprotein in normal lung alveolar epithelium and functionality in primary alveolar epithelial cultures. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;304(1):441-52.
17. Brambila-Tapia AJL. MDR1 (ABCB1) polymorphisms: Functional effects and clinical implications. *Rev Investig Clin*. 2013;65(5):445-54.
18. Chaturvedi P, Tulsyan S, Agarwal G i wsp. Influence of ABCB1 genetic variants in breast cancer treatment outcomes. *Cancer Epidemiol*. 2013;37(5):754-61.
19. Campa D, Müller P, Edler L i wsp. A comprehensive study of polymorphisms in ABCB1, ABCC2 and ABCG2 and lung cancer chemotherapy response and prognosis. *Int J Cancer*. 2012;131(12):2920-8.
20. Fung KL. A synonymous polymorphism in a common MDR1 (ABCB1) haplotype shapes protein function. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1794(5):860-71.
21. Zawadzka I, Jeleń A, Pietrzak J, et al. The impact of ABCB1 gene polymorphism and its expression on non-small-cell lung cancer development, progression and therapy – preliminary report. *Sci Rep*. 2020;10(1):1-10.
22. Subhani S, Jamil K, Nirni SS. Association of MDR1 gene (C3435T) polymorphism and gene expression profiling in lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Mol Diagnosis Ther*. 2015;19(5):289-97.
23. Sinués B, Fanlo A, Bernal ML i wsp. MDR-1C3435T genetic polymorphism and tobacco-related lung cancer. *Oncology*. 2003;64(2):183-5
24. Gervasini G, Carrillo JA, Garcia M, i wsp. Adenosine triphosphate-binding cassette B1 (ABCB1) (multidrug resistance 1) G2677T/A gene polymorphism is associated with high risk of lung cancer. *Cancer*. 2006;107(12):2850-7.
25. Han JY, Lim HS, Yoo YK i wsp. Associations of ABCB1, ABCC2, and ABCG2 polymorphisms with irinotecan-pharmacokinetics and clinical outcome in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer*. 2007;110(1):138-47.
26. Zhong J, Guo Z, Fan L i wsp. ABCB1 polymorphism predicts the toxicity and clinical outcome of lung cancer patients with taxane-based chemotherapy. *Thorac Cancer*. 2019;10(11):2088-95.
27. Gandara DR, Kawaguchi T, Crowley J i wsp. Japanese-US common-arm analysis of paclitaxel plus carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: A model for assessing population-related pharmacogenomics. *J Clin Oncol*. 2009;27(21):3540-6.
28. Pan JH, Han JX, Wu JM i wsp. MDR1 single nucleotide polymorphism G2677T/A and haplotype are correlated with response to docetaxel-cisplatin chemotherapy in patients with non-small-cell lung cancer. *Respiration*. 2009;78(1):49-55.
29. Fukudo M, Ikemi Y, Togashi Y i wsp. Population pharmacokinetics/pharmacodynamics of erlotinib and pharmacogenomic analysis of plasma and cerebrospinal fluid drug concentrations in Japanese patients with non-small cell lung cancer. *Clin Pharmacokinet*. 2013;52(7):593-609.
30. Tamura M, Kondo M, Horio M i wsp. Genetic polymorphisms of the adenosine triphosphate-binding cassette transporters (abcg2, abcb1) and gefitinib toxicity. *Nagoya J Med Sci*. 2012;74(1-2):133-40.
31. Kobayashi H, Sato K, Niioka T i wsp. Relationship among gefitinib exposure, polymorphisms of its metabolizing enzymes and transporters, and side effects in Japanese patients with non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2014;16(4):274-81.
32. Hirose T, Fujita K, Kusumoto S i wsp. Association of pharmacokinetics and pharmacogenomics with safety and efficacy of gefitinib in patients with EGFR mutation positive advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2016;93:69-76.
33. Park HS, Lim SM, Shin HJ i wsp. Pharmacogenetic analysis of advanced non-small-cell lung cancer patients treated with first-line paclitaxel and carboplatin chemotherapy. *Pharmacogenet Genomics*. 2016;26(3):116-25.
34. Sissung TM, Baum CE, Deeken J i wsp. ABCB1 genetic variation influences the toxicity and clinical outcome of patient with androgen independent prostate cancer treated with docetaxel. *Clin Cancer Res*. 2008;14(14):4543-9.
35. Ma Y, Xin S, Huang M i wsp. Determinants of Gefitinib toxicity in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): A pharmacogenomic study of metabolic enzymes and transporters. *Pharmacogenomics J*. 2017;17(4):325-30.
36. Hamada A, Sasaki J, Saeki S i wsp. Association of ABCB1 polymorphisms with erlotinib pharmacokinetics and toxicity in Japanese patients with non-small-cell lung cancer. Preliminary Communication. *Pharmacogenomics*. 2012;13(5):615-24.