

# Analiza ekspresji BCRP u pacjentek z rakiem piersi

## Analysis of BCRP expression in breast cancer patients

Maciejczyk Adam<sup>1</sup>, Szlachowska Jolanta<sup>1,2</sup>, Ekiert Marcin<sup>1,2</sup>,  
Matkowski Rafał<sup>2</sup>, Hałoń Agnieszka<sup>3</sup>, Surowiak Paweł<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Lower Silesian Centre of Oncology, Wrocław, Poland

<sup>2</sup> Department of Oncology, University School of Medicine, Wrocław, Poland

<sup>3</sup> Department of Pathology, University School of Medicine, Wrocław, Poland

<sup>4</sup> Department of Histology and Embryology, University School of Medicine, Wrocław, Poland

### Streszczenie

**Cel pracy:** Celem naszej pracy była ocena ekspresji białka BCRP w wycinkach pochodzących od pacjentek chorych na raka piersi i określenie jej związku z odległymi wynikami leczenia.

**Materiał i metody:** Materiał do badań immunohistochemicznych pochodził od 101 pacjentek z rozpoznaniem raka piersi. Badania immunohistochemiczne przeprowadzono na skrawkach parafinowych, z użyciem monoklonalnych przeciwciał przeciwko BCRP. Uzyskane wyniki oraz dane kliniczne pacjentów poddano statystycznej analizie.

**Wyniki:** W jedno i wieloczynnikowej analizie wyników wykazano, że wyższa ekspresja białka BCRP była związana z krótszym czasem przeżycia wolnego od wznowy (DFS), przeżycia specyficznego dla nowotworu (DSS) oraz przeżycia całkowitego (OS).

**Wnioski:** U pacjentek z wczesną postacią raka piersi wysoka ekspresja białka BCRP związana jest z gorszym rokowaniem.

Słowa kluczowe: rak piersi / czynniki prognostyczne / BCRP /

### Abstract

Breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2) is a xenobiotic half-transporter protein. It is a member of the ATP-binding cassette protein family and functions as an energy-dependent efflux pump. BCRP is involved in multidrug resistance. The study aimed at examining BCRP expression in breast cancers and at defining a relationship between activity of this protein and clinical course of the cancer.

**Materials and Methods:** We analyzed the expression of BCRP in 101 stage II breast cancer patients. All the patients were diagnosed and treated at the Lower Silesia Oncology Centre (LSOC) between January 1993 and June 1994. After the treatment the patients remained under constant control at LSOC. Mean duration of the observation was 14.2 years (ranging between 9.1 and 16.5 years). Data related to relapse of the disease and deaths were obtained from medical documentation stored in LSOC.

### Adres do korespondencji:

Paweł Surowiak,  
Department of Histology and Embryology, University School of Medicine  
ul. Chałubińskiego 6a, 50-356 Wrocław, Poland  
tel.: +48-71-7841355; fax: +48-71-7840082  
e-mail: pawel.surowiak@interia.pl

Otrzymano: 09.05.2012  
Zaakceptowano do druku: 10.08.2012

Maciejczyk A, et al. Analiza ekspresji BCRP u pacjentek z rakiem piersi.

The immunohistochemical reactions were performed on paraffin sections of primary tumours, using monoclonal antibodies against BCRP. The intensity of immunohistochemical reactions with BCRP antibody was evaluated using the semi-quantitative IRS (ImmunoReactive Score) scale, which took into account the intensity of the colour reaction and percentage of positive cells. Results of the immunohistochemical reactions, pathological and of clinical observations were subjected to statistical analysis. Correlations between these factors and BCRP were analyzed using Spearman and Chi2 tests. In order to estimate the survival rate, we used Kaplan Meier statistics, log-rank tests and Cox proportional hazard regression.

**Results:** In our analysis we observed a positive correlation between the expression of the BCRP protein and grade of tumour advancement ( $r=0.2$   $p=0.03$ ). We found also a negative correlation between the expression of BCRP and the estrogen ( $r=0,24$   $p=0,02$ ) and progesteron ( $r=0,28$   $p=0,02$ ) receptors.

In a univariate analysis a significantly shorter disease free survival (DFS) and disease specific survival (DSS) was noted in patients with metastases to the lymph nodes ( $p=0,003$  and  $p=0,0006$ ), over the age of 50 years old ( $p=0,02$  and  $p=0,04$ ) and clearly statistically significant in patients with a high expression of BCRP ( $p=0,00044$  and  $p=0,00005$ ). Overall survival (OS) was shorter in patients over the age of 50 ( $p=0,01$ ), with higher stage of the disease – IIB ( $p=0,025$ ), with metastases to the lymph nodes ( $p=0,003$ ) and also clearly statistically significant in patients with a high expression of BCRP ( $p=0.00004$ ).

A multivariate analysis allowed to reveal that only higher expression of BCRP and metastases to lymph nodes were typical for cases of DFS ( $p=0,0028$  and  $p=0,00015$ ), DSS ( $p=0,00052$  and  $0,000017$ ) and OS ( $p=0,0018$  and  $p=0,000007$ ) time.

**Conclusions:** We demonstrated that high BCRP expression level is associated with poor survival in early stage breast cancer patients.

Key words: **breast cancer / prognostic biomarker / BCRP /**

## Wstęp

Rak piersi jest najczęstszym nowotworem złośliwym wśród kobiet i nadal w krajach rozwiniętych obserwuje się ogólną tendencję wzrostową jego występowania [1]. Większość pacjentów standardowo poddawanych jest radykalnej terapii, powszechnie stosowane jest również leczenie uzupełniające. Niestety często u pacjentów obserwuje się nieefektywność stosowanej terapii uzupełniającej, która wynika z oporności guza na stosowane leczenie.

Oporność na leki stanowi poważne wyzwanie w chemioterapii nowotworów. Komórki nowotworowe mogą nabywać oporność na jeden lek lub na całą grupę leków cytotoksycznych. Komórkowy mechanizm działania białek związanych z opornością wielolekową obejmuje zmniejszenie wychwytu leku, aktywację procesu naprawy DNA, detoksykacji lub uszkodzenie sygnału apoptozy [2, 3]. Najczęstszym jednak mechanizmem działania jest aktywny transport leków z komórki za pośrednictwem pompy jonowej (*efflux pumps*).

Pierwszym i najlepiej przebadanym białkiem z tej grupy jest P- glikoproteina (P-gp/ABCB1), przedstawiciel grupy tzw. ABC-transporterów. Białko BCRP (*Breast Cancer Resistance Protein*), inna nazwa ABCG2, również należy do tej grupy związków, której wspólną cechą jest aktywny (ATP-zależny) transport substancji toksycznych przez błonę komórkową. Po raz pierwszy BCRP zostało opisane w 1998 przez Doyle i wsp. w ludzkiej linii komórkowej MCF-7/Adr VP raka piersi opornego na chemioterapię. Gen kodujący BCRP znajduje się na chromosomie 4 (4q22). Następnie odkryto dwa niemal identyczne białka, które różnią się tylko kilkoma aminokwasami: w liniach ludzkich komórek rakowych odpornych na mitoksantron – MXR i w łożysku ludzkim – ABCP. BCRP, MXR i ABCP to zasadniczo to samo białko [4, 5]. Nadekspresja BCRP w ludzkich komórkach nowotworowych wiąże się z opornością tych komórek na wiele cytostatyków.

Do leków przeciwnowotworowych usuwanych aktywnie z komórki przez BCRP należą: mitoksantron, doksorubicyna, daunorubicyna, metotreksat, SN-38 i topotekan. Analiza właściwości białka BCRP jest jednym z kierunków rozwoju badań mających na celu poznanie mechanizmów powstania oporności na leczenie [6, 7].

Tabela 1. Charakterystyka pacjentów.

Charakterystyka	Liczba pacjentów (%)
<b>Wiek (średni) Age (mean)</b>	101 (100)
< 50	30 (29,7)
≥ 50	71 (70,3)
<b>Grade</b>	
1	0 (0)
2	69 (68,3)
3	32 (31,7)
<b>Przerzuty w węzłach chłonnych</b>	
Yes	41 (40,6)
No	60 (59,4)
<b>ER</b>	
ER ujemne ER (0-9 %)	22 (21,7)
ER dodatnie ER (>10%)	64 (63,3)
<b>PgR</b>	
PgR ujemne PgR (0-9%)	22 (21,7)
PgR dodatnie PgR (>10%)	64 (63,3)
<b>HER-2</b>	
HER-2 ujemne HER-2 (IHC 0, 1, 2)	67 (66,3)
HER-2 dodatnie HER-2 (IHC 3)	19 (18,8)
<b>Tylko chemioterapia</b>	24 (23,8)
<b>Tylko terapia hormonalna</b>	56 (55,4)
<b>Chemioterapia i terapia hormonalna</b>	3 (3)
<b>Brak leczenia systemowego</b>	18 (17,8)

Tabela II. Korelacja między badanymi parametrami (test korelacji porządku rang Spearmana).

	BCRP	Menopauza	Wiek	Grade	Stadium TNM	T (cm)	pN +	Ekspresja ER	Ekspresja PgR	Ekspresja HER-2
BCRP		NS	NS	r=0,2 p=0,03	NS	NS	r=0,26 p=0,00638	r=-0,24 p=0,02	r=-0,28 p=0,007	NS
Menopauza	NS		r=0,2 p=0,04	NS	r=0,2 p=0,042	NS	NS	NS	NS	NS
Wiek	NS	r=0,2 p=0,04		NS	r=0,2 p=0,04	NS	NS	NS	NS	NS
Grade	r=0,2 p=0,03	NS	NS		NS	NS	NS	r=-0,4 p=0,00012	r=-0,31 p=0,00036	NS
Stadium TNM	NS	r=0,2 p=0,042	r=0,2 p=0,04	NS		r=0,4 p=0,00003	r=0,32 p=0,00077	NS	NS	NS
T (cm)	NS	NS	NS	NS	r=0,4 p=0,00003		NS	NS	NS	r=-0,22 p=0,04
pN +	NS	NS	NS	NS	r=0,32 p=0,00077	NS		r=0,36 p=0,00054	r=0,25 p=0,0165	NS
Ekspresja ER	r=-0,24 p=0,02	NS	NS	r=-0,4 p=0,00012	NS	NS	r=0,36 p=0,00054		r=0,66 p=0,0000	NS
Ekspresja PgR	r=-0,28 p=0,007	NS	NS	r=-0,31 p=0,00036	NS	NS	r=0,25 p=0,0165	r=0,66 p=0,0000		NS
Ekspresja HER-2	NS	NS	NS	NS	NS	r=-0,22 p=0,04	NS	NS	NS	NS

## Cel pracy

Celem naszej pracy była ocena ekspresji białka BCRP w wycinkach pochodzących od pacjentek chorych na raka piersi i określenie jej związku z odległymi wynikami leczenia.

## Materiał i metody

### Pacjenci

Materiał do badań immunohistochemicznych pochodził od 101 pacjentek z rozpoznaniem raka piersi. Wszystkie pacjentki zostały zdiagnozowane, a następnie leczone w Dolnośląskim Centrum Onkologii (DCO) pomiędzy styczniem 1993, a czerwcem 1994.

Średni wiek pacjentek wynosił 56 lat, najmłodsza miała 29, a najstarsza 86 lat. U 42 pacjentek zdiagnozowano raka piersi w stopniu zaawansowania IIA, a u 59 w stopniu IIB wg klasyfikacji TNM 1997. Wielkość guza wynosiła między 1, a 7,5 cm, średnio 3,22 cm. Przerzuty w węzłach chłonnych stwierdzono u 41 pacjentek. (Tabela I).

Wszystkie pacjentki zostały poddane radykalnej zmodyfikowanej mastektomii sposobem Maddena. Leczenie adjuwantowe zastosowano u 83 pacjentek. 24 z nich otrzymały samodzielną chemioterapię, 56 samodzielną hormonoterapię, a 3 pacjentki chemioterapię z następującą hormonoterapią.

Chemioterapia oparta była na 6 cyklach CMF (cyclophosphamide, 5-fluorouracyl, methotrexate). Hormonoterapia polegała na stosowaniu przez 5 lat tamoxifenu. U części leczonych pacjentek stosowano pooperacyjną radioterapię. Pooperacyjna radioterapia była stosowana w obu grupach pacjentek według wskazań zgodnych ze standardami postępowania w latach 1993-1994: napromienianie było prowadzone tylko u chorych ze śred-

nią guza przekraczającą 3 cm lub/i z licznymi przerzutami do węzłów chłonnych pachowych. Sposób kojarzenia uzupełniającej radioterapii i chemioterapii nie był jednoznacznie ustalony.

W trakcie prowadzonej obserwacji, zmarło 39 (38,6%) pacjentek, w tym 8 bez cech progresji raka. Żyją 62 (61,4%) pacjentki, w tym 5 pacjentek z potwierdzonym nawrotem choroby. U 3 z nich stwierdzono wznowę lokoregionalną w bliźnie, u pierwszej z nich pojawiła się ona w okresie 0,5 roku od operacji, u drugiej pacjentki po 9 latach, a u trzeciej po 13 latach. Ponadto żyją dwie pacjentki ze stwierdzonym rozsiewem do płuc. U pierwszej z nich rozsiew do płuc ujawnił się po 7 latach. Od tego czasu pacjentka żyje ponad 6 lat. U drugiej meta do płuc ujawnił się po ponad 14 latach, od tego czasu pacjentka żyje ponad rok.

### Immunohistochemia

Pobrane od pacjentów wycinki utrwalano w 10% roztworze zbuforowanej formaliny i zatopiono w parafinie. Preparaty barwione hematoksyliną i eozyną zostały poddane ocenie histopatologicznej.

Badania immunohistochemiczne przeprowadzono na skrawkach parafinowych grubości 4 µm, które umieszczano na szkiełkach Superfrost Plus (Menzel Gläser, Niemcy), a następnie odparafinowywano w ksylenie i przeprowadzano przez szereg alkoholi o malejących stężeniach aż do wody. Epitopy antygenów tkanek utrwalonych w formalinie odkrywano przez gotowanie skrawków przez 20 min. w kuchence mikrofalowej na mocy 500W w *Target Retrieval Solution* (DakoCytomation, Polska). Blokowanie endogennej peroksydazy uzyskiwano przez inkubację w 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> przez 30 min. Następnie badane skrawki inkubowano przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej z mysimi monoklonalnymi przeciwciałami przeciwko BCRP (klon BXP-21)

(Alexis Biochemicals, Niemcy) w rozcieńczeniu 1:100. Przeciwciała były rozcieńczane w Antibody Diluent, Background Reducing (DakoCytomation, Polska). Wizualizacji dokonano za pomocą zestawu LSAB+ System-HRP (DakoCytomation, Polska) oraz chromogenu, DAB (3,3'-diaminobenzzydiny) z zestawu DAB+, Liquid (DakoCytomation, Polska) przez 7 min. Wszystkie skrawki podbarwiono za pomocą hematoksyliny Mayera.

### Reakcje kontrolne

Przeprowadzono kontrolę negatywną polegającą na zastąpieniu specyficznych przeciwciał roztworem Primary Negative Control (DakoCytomation, Polska). Kontrolę pozytywną przeprowadzono na skrawkach zdrowej ludzkiej wątroby. Wyniki reakcji immunohistochemicznych były również korelowane z wynikami reakcji RT-PCR [8].

### Ocena nasilenia reakcji immunohistochemicznych

Nasilenie reakcji immunohistochemicznych było oceniane przez dwóch niezależnych patologów wg półilościowej skali ImmunoReactive Score (IRS) [9]. Skala ta uwzględnia nasilenie reakcji barwnej oraz odsetek komórek pozytywnych. Wynik jest iloczynem punktów przyznawanych za oceniane cechy i może osiągać wartość w przedziale 0-12.

### Analiza statystyczna

Analizie statystycznej poddano dane kliniczno patologiczne takie jak wiek pacjentek w chwili rozpoznania choroby, stan menopauzalny, stopień zaawansowania choroby (pTNM), obecność przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych (pN), wielkość guza pierwotnego wyrażona w centymetrach (T), stopień ekspresji receptorów estrogenowego (ER), progesteronowego (PgR) i HER 2, stopień złośliwości guza wg skali Bloom-Richardson (G) oraz stopień ekspresji markera BCRP wg skali IRS. Zbadano korelacje pomiędzy badanymi czynnikami stosując test korelacji porządku rang Spearmana, do analizy prawdopodobieństwa przeżycia posłużono się metodą Kaplana-Meiera, testem *log-rank* i modelem regresji proporcjonalnego hazardu Coxa. Wszystkie analizy statystyczne zostały przeprowadzone z zastosowaniem pakietu Statistica 9.0 PL [10].

Długość przeżycia pacjentek została ustalona na podstawie kontroli i obserwacji pacjentek, prowadzonej w DCO, oraz danych zgromadzonych w Dolnośląskim Rejestrze Nowotworów. Przeżycie wolne od nawrotu choroby (DFS) zostało określone jako czas między zabiegiem operacyjnym, a pojawieniem się nawrotu choroby nowotworowej. Przeżycie specyficzne dla choroby (DSS) określa czas między operacją, a zgonem z powodu nowotworu. Przeżycie całkowite (OS) jest to czas pomiędzy datą operacji, a datą zgonu pacjentki. W przypadku gdy nie wystąpiły w/w zdarzenia, obserwacje były uznawane za ucięte z datą ostatniej kontroli pacjentki.

### Wyniki

W wyniku przeprowadzonych reakcji immunohistochemicznych otrzymano produkt barwny zlokalizowany w błonach komórek nowotworowych o różnym nasileniu w poszczególnych przypadkach. (Rycina 1).

W badanej przez nas grupie pacjentek, zaobserwowaliśmy dodatnią korelację pomiędzy intensywnością reakcji barwnej markera BCRP w komórkach nowotworu, a stopniem złośliwości guza (G), oraz ujemną korelację pomiędzy badanym markerem, a ekspresją receptorów estrogenowych i progesteronowych.

**Tabela III.** Prawdopodobieństwo 15-letniego przeżycia wolnego od nawrotu choroby (DFS), specyficznego dla choroby (DSS) i całkowitego (OS) w zależności od wybranych parametrów kliniczno-patologicznych, dla grupy badanych pacjentek z rozpoznaniem raka piersi (*log-rank test*).

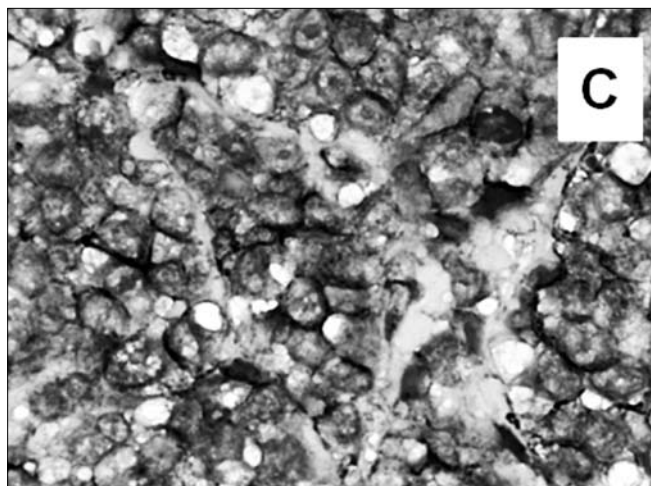
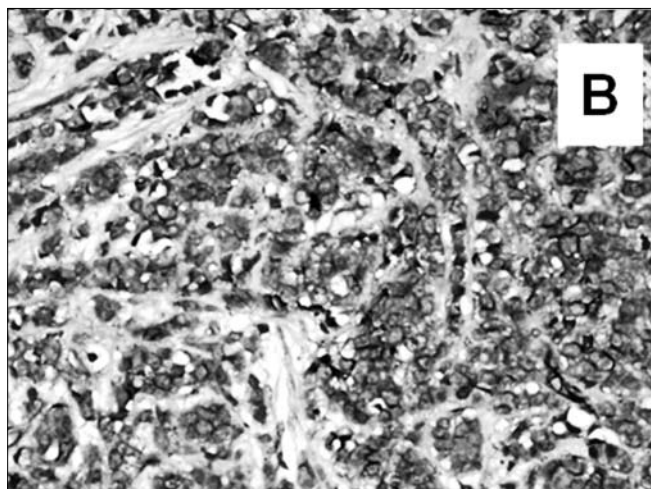
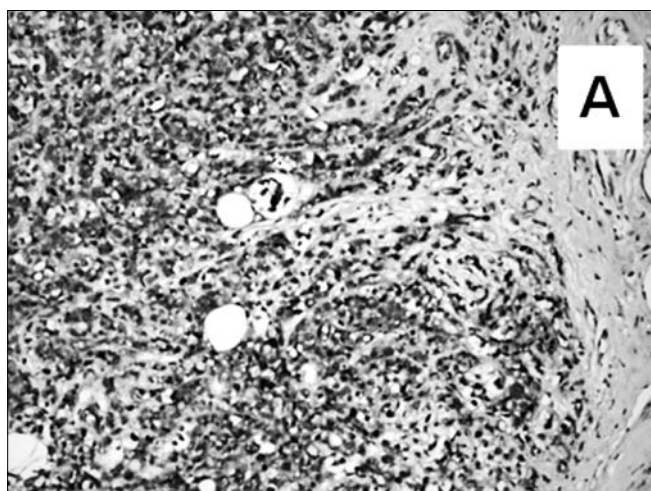
	Liczba pacjentów	DFS	DSS	OS
II A	59	69%	78%	76%
II B	42	57%	61%	48%
<b>P</b>		NS	NS	<b>0,025</b>
G 2	<b>69</b>	65%	68%	60%
G 3	<b>32</b>	56%	68%	57%
<b>P</b>		NS	NS	NS
Przed menopauzą	32	70%	74%	74%
Po menopauzie	69	59%	65%	52%
<b>P</b>		NS	NS	<b>0,047</b>
Wiek <50	30	78%	83%	80%
Wiek ≥50	71	56%	61%	50%
<b>P</b>		<b>0,02</b>	<b>0,04</b>	<b>0,01</b>
HER 2 -	67	64%	70%	62%
HER 2 +	19	52%	58%	47%
<b>P</b>		NS	NS	NS
ER -	22	61%	68%	57%
ER +	64	61%	68%	59%
<b>P</b>		NS	NS	NS
PgR -	22	60%	72%	62%
PgR +	64	62%	66%	58%
<b>P</b>		NS	NS	NS
N-	60	73%	80%	70%
N +	41	48%	50%	43%
<b>P</b>		<b>0,003</b>	<b>0,0006</b>	<b>0,003</b>
BCRP <6	80	70%	77%	68%
BCRP ≥6	21	31%	32%	23%
<b>P</b>		<b>0,00044</b>	<b>0,00005</b>	<b>0,00004</b>

Korelacje pomiędzy innymi ocenianymi parametrami przedstawiono w tabeli II.

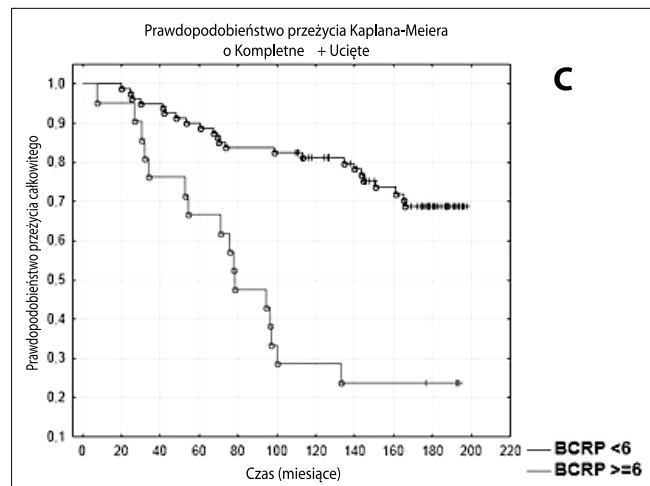
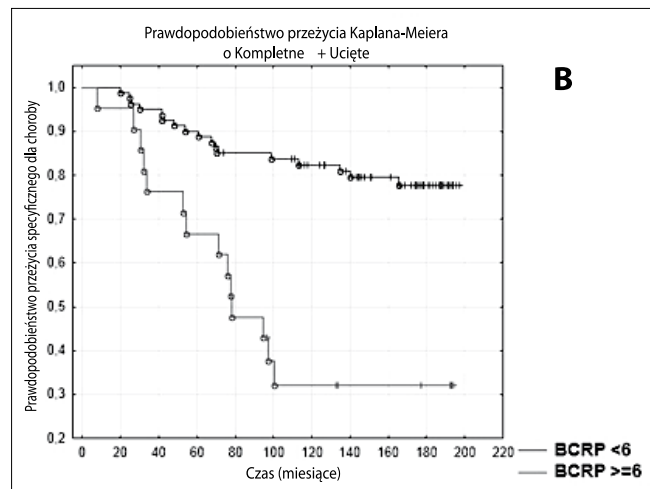
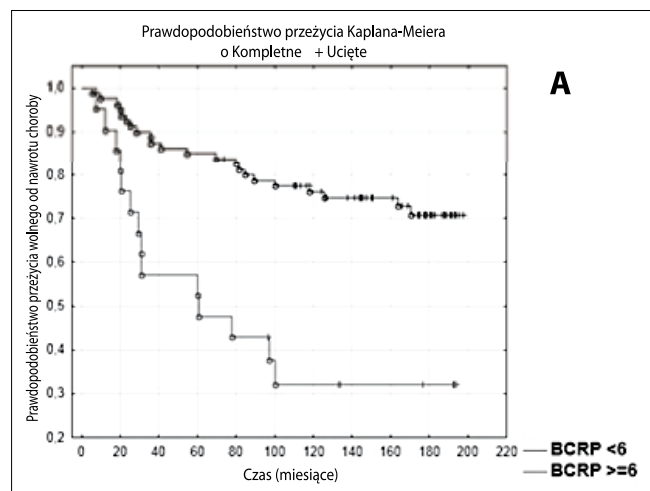
W przeprowadzonej przez nas jednoczynnikowej analizie przeżycia (Tabela III), niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi dla przeżycia wolnego od nawrotu choroby (DFS) i przeżycia specyficznego dla choroby (DSS) były:

- Wiek powyżej 50 roku życia.
- Obecność przerzutowo zmienionych węzłów chłonnych w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym.
- Ekspresja markera BCRP oceniona wg skali IRS na większą lub równą 6. (Rycina 2A i B).

Maciejczyk A, et al. Analiza ekspresji BCRP u pacjentek z rakiem piersi.



**Rycina 1.** Immunohistochemiczna lokalizacja ekspresji BCRP w komórkach raka piersi: A. x100; B x200, C x400 (brązowy kolor reakcji; jądra podbarwione hematoksyliną).



**Rycina 2.** Krzywe przeżycia pacjentów w zależności od ekspresji białka BCRP: (A) przeżycie wolne od wznowy (B) przeżycie specyficzne dla nowotworu (C) przeżycie całkowite.

W przypadku przeżycia całkowitego (OS) do niekorzystnych czynników rokowniczych należały:

- Wiek powyżej 50 roku życia.
- Obecność przerzutowo zmienionych węzłów chłonnych w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym.
- Ekspresja markera BCRP oceniona wg skali IRS na większą lub równą 6. (Rycina 2C).

- Stopień zaawansowania IIB (w porównaniu do stopnia IIA).
- Pomenopauzalny wiek pacjentek.

W analizie wieloczynnikowej Coxa, niezależnymi czynnikami rokowniczymi dla przeżycia wolnego od nawrotu choroby (DFS), przeżycia specyficznego dla choroby (DSS) i przeżycia całkowitego (OS) okazała się być wysoka ekspresja BCRP,

**Tabela IV.** Niezależne czynniki prognostyczne – test wieloczynnikowej regresji proporcjonalnego hazardu Coxa.

	Wartość p	Hazard względny	Hazard względny 95% dolna	Hazard względny 95% górna
<b>DFS</b>				
<b>N+</b>	0,002785	2,756899	1,418398	5,358499
<b>BCRP &gt;=6</b>	0,00015	3,692892	1,87988	7,254427
<b>DSS</b>				
<b>N+</b>	0,000519	3,697536	1,767104	0,000519
<b>BCRP &gt;=6</b>	0,000017	4,845449	2,361060	0,000017
<b>OS</b>				
<b>N+</b>	0,001852	2,745194	1,453689	0,001852
<b>BCRP &gt;=6</b>	0,000007	4,463191	2,328053	0,000007

i obecność przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych. (Tabela IV).

## Dyskusja

Białko BCRP w warunkach fizjologicznych jest głównie zlokalizowane w błonie nabłonka naturalnych barier narządowych, takich jak krew-mózg, krew-jądro i szczególnie w obrębie łożyska. Odgrywa rolę ochronną, zapewniając aktywnych wpływ ksenobiotyków i innych substancji chemicznych, toksyn poza komórkę. BCRP odgrywa ważną rolę w procesie absorpcji (jelita), dystrybucji (łożysko) i eliminacji (wątroba) różnych substancji [11, 12, 13].

W ostatnich latach pojawiło się również szereg analiz aktywności ABC-transporterów w różnych typach nowotworów. Niektórzy badacze wskazują, że w ostrej białaczce szpikowej istnieje związek między ekspresją BCRP w komórkach blastycznych a odpowiedzią na leczenie i średnim czasem życia chorych. Zależność ta nie została jednak potwierdzona w innych badaniach. W naszej poprzedniej pracy wykazaliśmy dodatnią korelację między ekspresją BCRP, cytoplazmatyczną ekspresją MRP2 i kliniczną odpowiedzią na leczenie u pacjentów z chłoniakiem nieziarniczym (NHL). Zaobserwowaliśmy krótszy czas przeżycia wolnego od progresji u pacjentów z podwyższonym poziomem ekspresji BCRP. Nasze obserwacje sugerują, że BCRP mogą odgrywać zasadniczą rolę w powstawaniu oporności na chemioterapię u chorych z NHL [14].

Obecność tego białka została również opisana w liniach komórkowych raka jajnika (IGROV-1), gdzie wiązano to z wystąpieniem oporności na leki, której mechanizm działania związany był z hamowaniem topoizomazy. W efekcie komórki wykazujące obecność BCRP charakteryzowały się opornością na chemioterapię, głównie na topotekan. Podobne obserwacje oporności na topotekan opisano również w badaniach innych linii komórkowych, takich jak T8 i MCF-7/TPT300 [6, 12].

Aktywność działania BCRP nie ogranicza się jednak jedynie do hamowania działania topotekanu. Nadekspresję BCRP wykryto w różnych liniach komórkowych opornych na mitoksantron, które pochodzą z różnych typów nowotworu: raka piersi (MCF-7), rak jelita grubego (S1), raka żołądka (EPG85-257)

i włókniakomięsaka (EPF86-079). Obserwacje te wskazują na uniwersalność mechanizmu oporności na mitoksantron opartego na tym białku [12, 15]. Nadekspresja BCRP jest obserwowana w komórkach macierzystych, w warunkach niedotlenienia związanych z działaniem ścieżki sygnalizacyjnej HIF-1. Taki mechanizm działania białka sugeruje również istotną rolę nadekspresji BCRP w powstawaniu radiooporności [15].

Podwyższoną ekspresję BCRP obserwowano również bezpośrednio u pacjentów z różnymi typami nowotworów litych, tj. w raku żołądka, wątrobowokomórkowym, jelita grubego, płuca i w czerniaku. Yoh et al. wykazali silną korelację ekspresji BCRP w próbkach guza NSCLC w stopniu zaawansowania IIIB lub IV z odpowiedzią na chemioterapię związkami platyny. [16].

Pomimo, że w wielu badaniach opisywano znaczną ekspresję BCRP w komórkach raka piersi tylko nieliczne prace odnoszą się do znaczenia klinicznego BCRP w tym nowotworze. Faneyte I wsp., analizując obecność tego białka u 25 chorych na raka piersi, nie znalazł znamiennej statystycznie korelacji między poziomem mRNA dla BCRP a odpowiedzią na leczenie i czasem przeżycia chorych [17]. Również Burger i wsp. w badaniu z udziałem 59 chorych na raka piersi nie wykazali istotnej statystycznie zależności pomiędzy poziomem mRNA dla BCRP a odpowiedzią na leczenie [18]. Należy jednak podkreślić, że opisane w badaniach grupy pacjentów były mało liczne, krótki był również czas obserwacji wyników leczenia. W naszej pracy poddaliśmy analizie dużo większą i do tego bardzo jednolitą, pod względem stopnia zaawansowania choroby grupę pacjentów. Wykorzystanie z kolei analizy immunohistochemicznej w naszym badaniu spowodowało zminimalizowanie liczby pacjentów ze stosunkowo niską ekspresją BCRP w grupie chorych opisanych jako BCRP- dodatniej. Zasadniczą zaletą naszego badania jest jednak długi okres obserwacji pacjentek, który w sposób wiarygodny pozwala ocenić wartość rokowniczą badanego markera. Wykazaliśmy, że w opisanej przez nas grupie pacjentek, BCRP jest najmocniejszym czynnikiem prognostycznym. Wartość tą potwierdziliśmy w analizie jedno- i wieloczynnikowej i należy podkreślić, że jedynym równie istotnym w naszym badaniu markerem był powszechnie używany jak najważniejszy parametr prognostyczny stan zajęcia regionalnych węzłów chłonnych.

## Wnioski

W naszej pracy wykazaliśmy, że ocena aktywności BCRP może być pomocna przy stratyfikacji pacjentek z wczesną postacią raka piersi, które mają być poddane chemioterapii. Wyniki naszej pracy powinny zostać zweryfikowane w badaniach perspektywicznych.

Podziękowania:

**Badania zostały sfinansowane z grantu nr 0638/B/P01/2008/35 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego**

## Piśmiennictwo

1. Ferlay J, Bray P, Pisani P, Parkin D. GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence. Worldwide IARC Cancerbase. Lyon; IARC Press: 2004.
2. Lemos C, Jansen G, Peters G. Drug transporters: recent advances concerning BCRP and tyrosine kinase inhibitors. *Br J Cancer*. 2008, 98, 857-862.
3. Wilczyński J, Kufelnicka M, Smolarz B, [et al.]. Is MDR 1 gene a key to successful chemotherapy? *Ginekol Pol*. 2006, 77, 476-484.
4. Ni Z, Bikadi Z, Rosenberg M, Mao Q. Structure and function of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Curr Drug Metab*. 2010, 11, 603-617.
5. Surowiak P, Pudelko M, Maciejczyk A, [et al.]. The relationship of the expression of proliferation-related antigens Ki67 and PCNA in the cells of ductal breast cancer with the differentiation grade. *Ginekol Pol*. 2005, 76, 9-1.
6. Kruijzer C, Beijnen J, Rosing H, [et al.]. Increased oral bioavailability of topotecan in combination with the breast cancer resistance protein and P-glycoprotein inhibitor GF120918. *J Clin Oncol*. 2002, 20, 2943-2950.
7. Paturi D, Kwatra D, Ananthula H, [et al.]. Identification and functional characterization of breast cancer resistance protein in human bronchial epithelial cells (Calu-3). *Int J Pharm*. 2010, 384, 32-38.
8. Priebisch A, Rompe F, Tonnies H, [et al.]. Complete reversal of ABCG2-dependent atypical multidrug resistance by RNA interference in human carcinoma cells. *Oligonucleotides*. 2006, 16, 263-274.
9. Remmele W, Stegner H. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue. *Pathologe*. 1987, 8, 138-140.
10. Statistica PL (2007) (Statsoft, Poland).
11. Nicolazzo J, Katneni K. Drug transport across the blood-brain barrier and the impact of breast cancer resistance protein (ABCG2). *Curr Top Med Chem*. 2009, 9, 130-147.
12. Robey R, To K, Polgar O, [et al.]. ABCG2: a perspective. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009, 61, 3-13.
13. Kozłowska-Rup D, Czekaj P. Barrier role of ABC family of proteins in human placenta. *Ginekol Pol*. 2011, 82, 56-63.
14. Szczuraszek K, Materna V, Haloń A, [et al.]. Positive correlation between cyclooxygenase-2 and ABC-transporter expression in non-Hodgkin's lymphomas. *Oncol Rep*. 2009, 22, 1315-1323.
15. Mao Q, Unadkat J. Role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in drug transport. *AAPS J*. 2005, 7, 118-133.
16. Yoh K, Ishii G, Yokose T, [et al.]. Breast cancer resistance protein impacts clinical outcome in platinum-based chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2004, 10, 1691-1697.
17. Faneyte I, Kristel P, Maliepaard M, [et al.]. Expression of the breast cancer resistance protein in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2002, 8, 1068-1074.
18. Burger H, Foekens J, Look M, [et al.]. RNA expression of breast cancer resistance protein, lung resistance-related protein, multidrug resistance-associated proteins 1 and 2, and multidrug resistance gene 1 in breast cancer: correlation with chemotherapeutic response. *Clin Cancer Res*. 2003, 9, 827-836.

KOMUNIKAT



# MAZURSKA SZKOŁA USG I GINEKOLOGII

PLANOWANE KURSY  
W MAZURSKIEJ SZKOLE USG I GINEKOLOGII

**16-21 września**

*USG w ginekologii i położnictwie dla początkujących.  
Teoria i praktyka.*

Kierownik naukowy: prof. dr hab. Romuald Dębski

**27-29 września**

*Doppler w ginekologii i położnictwie.*

Kierownik naukowy: prof. dr hab. Mariusz Dubiel

**4-6 października**

*Diagnostyka prenatalna z elementami echokardiografii płodu.*

Kierownik naukowy: dr hab. Dariusz Borowski

**11-13 października**

*Kolposkopia dla zaawansowanych.*

Kierownik naukowy: prof. dr hab. Andrzej Malarewicz

**21-24 listopada**

*USG w ginekologii i położnictwie dla zaawansowanych.*

Kierownik naukowy: prof. dr hab. Romuald Dębski

Wszelkie informacje oraz zapisy na kursy:

**www.usg.pisz.pl, usg@usg.pisz.pl**

tel.: **0 504 075 804** (8:00-15:00)

MAZURSKA SZKOŁA USG I GINEKOLOGII,  
GEMELLI S.C.  
UL. LEŚNA 18, 12-200 PISZ