مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی‌ام/شماره ۲۱۳/هفته سوم دی ماه ۱۳۹۱
مقاله مروری
تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۱۵

روش‌های غلبه بر مقاومت دارویی چندگانه ناشی از انتقال دهنده‌های متصل شونده به ATP

منصوره‌السادات انتظار قائم[۱]، دکتر سهیلا رهگذر[۲]، دکتر علیرضا معافی[۳]

چکیده

مقدمه: مقاومت دارویی چندگانه (Multidrug resistance یا MDR) پدیده‌ای شایع با علل متنوع است که در سلول‌های سرطانی در پاسخ به شیمی‌درمانی ایجاد می‌شود. اصلی‌ترین علت بروز MDR، خروج داروهای شیمی‌درمانی از سلول به وسیله‌ی انتقال‌دهنده‌های متصل‌شونده به ATP (ATP-binding cassette transporters یا انتقال‌دهنده‌های ABC) است. از زمان کشف دخالت این انتقال‌دهنده‌ها در ایجاد مقاومت نسبت به مواد شیمیایی، تحقیقات گسترده‌ی محققین برای غلبه‌ی انتخابی بر عملکرد این پروتئین‌ها آغاز شده است. هدف از این مطالعه، مروری بر شیوه‌های مختلفی بود که تاکنون محققان در زمینه‌ی غلبه بر MDR ناشی از این انتقال دهنده‌ها به کار گرفته‌اند.

روش‌ها: این مطالعه با بررسی بیش از ۷۰ پژوهش پایه و به روز محققان در زمینه‌ی شیوه‌های نوین غلبه بر پدیده‌ی MDR ناشی از انتقال دهنده‌های ABC، به بحث در مورد این شیوه‌ها پرداخته است.

یافته‌ها: اولین شیوه‌ی مقابله با اثر انتقال‌دهنده‌های ABC، استفاده از مهارکننده‌های شیمیایی است. سمیت و عوارض جانبی غیر قابل پیش‌بینی این مواد که نقش تعدیل‌کننده‌ی انتقال‌دهنده را ایفا می‌کنند، محققین را در استفاده‌ی بالینی از آن‌ها محتاط می‌کند. استفاده از روش‌های تحویل دارو شامل انواع نانوذرات، میسل‌ها و لیپوزوم‌ها، همراه با استفاده از تکنیک‌هایی چون سونیکاسیون برای افزایش اختصاصیت تحویل و رفع مقاومت دارویی از دیگر تکنیک‌هایی است که پژوهش‌های گسترده‌ای در زمینه‌ی آن‌ها صورت گرفته است. کاهش یا سرکوب بیان انتقال‌دهنده‌های ABC با استفاده از سیستم RNAی مداخله‌گر از شیوه‌های امیدوارکننده‌ی دیگر محسوب می‌گردد. این مولکول‌ها را می‌توان به وسیله‌ی حامل‌های متنوعی مانند پلاسمیدها، وکتورهای ویروسی، حامل‌های لیپیدی و پلیمرهای شیمیایی به سلول مورد نظر وارد کرد و mRNAی ژن هدف را تخریب نمود. همچنین استفاده از آنتی‌بادی‌ها و پپتیدهای با تمایل اتصال بالا در دست بررسی هستند.

نتیجه‌گیری: با وجود پیشرفت‌های فراوان در زمینه‌ی غلبه بر MDR ناشی از انتقال‌دهنده‌های ABC، اغلب روش‌ها در مرحله‌ی تحقیقات پیش‌بالینی یا در مراحل اولیه‌ی بررسی‌های بالینی هستند و پژوهشگران مسیری طولانی برای فراهم کردن استفاده‌ی بالینی مطمئن از این شیوه‌ها در پیش دارند. از علل اصلی کندی این پیشرفت، محدوده‌ی وسیع سوبسترایی انتقال‌دهنده‌های ABC و توزیع وسیع این پروتئین‌ها در بافت‌های سالم و بیمار می‌باشد.

واژگان کلیدی: مقاومت دارویی، انتقال‌دهنده‌های متصل‌شونده به ATP، تعدیل‌کننده‌های انتقال‌دهنده‌ی غشایی، سیستم‌های تحویل دارو، سیستم RNAی مداخله‌گر

مقدمه

مقاومت دارویی چندگانه

پدیده‌ی مقاومت دارویی چندگانه (MDR یا Multidrug resistance)، نوعی منحصر به فرد از مقاومت دارویی است که طی آن سلول های بیمار که به طور عمده سرطانی می‌باشند، پس از دوره‌ای قرارگیری در معرض یک عامل شیمیایی خاص، و متعاقب آن به گستره‌ی وسیعی از داروهای شیمیایی که

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
[۳] دانشیار، گروه اطفال، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات رشد و نمو کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر سهیلا رهگذر
Email: rahgozar@sci.ui.ac.ir

ممکن است از نظر ساختاری و عملکردی متفاوت باشند، مقاومت پیدا می‌کنند (۳-۱). این پدیده که برای اولین بار در سال ۱۹۵۰ توسط Burchenal و Robinson در سلول های لوسمیک موش گزارش شد (۴)، سد اصلی در برابر موفقیت در درمان بیماری‌های بدخیم عنوان می‌گردد (۷-۵، ۳)؛ به طوری که موجب ناکامی در درمان ۹۰ درصد از بیماران مبتلا به بیماری‌های متاستاتیک شده است (۹-۸، ۵).

در میان داروهایی که پس از مدتی استفاده در شیمی‌درمانی بیماران سرطانی، به بروز MDR می‌انجامند می‌توان به وینکاآلکالوییدها (وینبلاستین و وینکریستین)، آنتراسیکلین‌ها (دوکسوروبیسین یا DOX و دونوروبیسین یا DNR)، تاکسان‌ها (پاکلی‌تاکسل یا PTX) (۵) و گلوکوکورتیکوییدها (۱۰) اشاره کرد؛ هر چند این داروها از نظر ساختاری متنوع هستند، ولی به طور عمومی آب‌دوست یا دوگانه‌دوست با وزن مولکولی بالا (بیش از ۴۰۰ دالتون)، بار مثبت در pH فیزیولوژیک و سیستم حلقوی صفحه‌ای هستند (۹).

دلایل بروز MDR دو مکانیسم عمده‌ی غیر سلولی و سلولی می‌باشد. مکانیسم های غیر سلولی شامل عوامل خارج سلولی و مشخصات فیزیولوژیکی دخیل در دسترسی دارو به جایگاه هدف می‌باشند مانند ریزمحیط (Microenvironment) سلول یا دستیابی عروقی به سلول های هدف (۱۱، ۵)، در حالی که در مکانیسم‌های سلولی، سیستم‌های آنزیمی و انتقال‌دهنده‌ها درگیر هستند (۱۱). مکانیسم‌های اخیر ناشی از تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی سلول ها هستند که به دنبال قرارگیری سلول در معرض داروها وارد عمل می‌شوند. این مکانیسم‌ها عبارتند از: ۱- فرایندهای کاهش دهنده‌ی غلظت دارو در سیتوپلاسم سلول از آستانه‌ی سمیت‌زایی مانند افزایش خروج فعال دارو از سلول، کاهش ورود دارو به سلول و افزایش متابولیسم دارو، ۲- مکانیسم‌های درگیر در تغییر اهداف مولکولی مانند کاهش فعالیت توپوایزومراز αII و ۳- مکانیسم هایی که مانع از مرگ سلولی القا شده توسط دارو می‌شوند مانند افزایش مکانیسم‌های ترمیم آسیب DNA و تغییر سیستم مرگ سلولی (۱۲-۱۱، ۵، ۳).

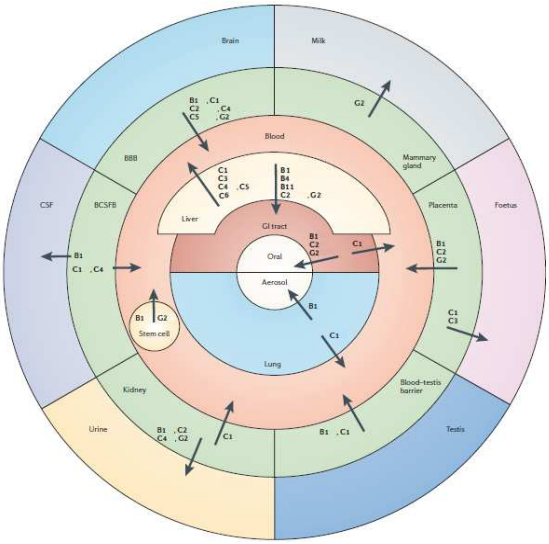
اما عمده‌ترین مکانیسم MDR، جریان فعالانه‌ی دارو به خارج از سلول به وسیله‌ی انتقال‌دهنده‌های متصل‌شونده به ATP (انتقال‌دهنده‌های ABC یا ATP-binding cassette transporters) است که نقش‌های فیزیولوژیکی مهمی را در سلول‌های پستانداران ایفا می‌کنند (۲).

انتقال دهنده‌های متصل‌شونده به ATP

در سال ۱۹۷۴ See و همکاران این موضوع را که بروز MDR توسط مکانیسمی وابسته به انرژی وساطت می‌شود، به اثبات رساندند (۱۳). چند سال بعد در ۱۹۸۳ ارتباط میان بیان معروف‌ترین عضو ابرخانواده‌ی انتقال‌دهنده‌های ABC یعنی پروتئین P-gp (P-glycoprotein) در سطح سلول های مقاوم به دارو و کسب فنوتیپ MDR قطعی گردید (۱۴).

انتقال‌دهنده‌های ABC، پروتئین‌های غشایی دارای دمین‌های گذرنده از غشا و دمین‌های مجزایی برای اتصال نوکلئوتید هستند (۱۵، ۳) و بر اساس نحوه‌ی قرارگیری این دمین‌ها و هومولوژی توالی اسیدهای آمینه به ۷ خانواده‌ی مجزا (A-G) دسته‌بندی می‌شوند (۱۵، ۱۲، ۳). این پروتئین‌ها با انتقال فعال حاصل از هیدرولیز ATP، قادر هستند که محدوده‌ی وسیعی از

سوبستراها را از قبیل یون‌ها، قندها، اسیدهای آمینه، لیپیدها، توکسین‌ها و داروهای ضد سرطان، از سلول خارج کنند و بر این اساس نقش مهمی در سمیت‌زدایی و حفاظت از سلول‌ها در برابر سموم ایفا می‌کنند (۱۶، ۱۲). مشاهده‌ی پراکندگی بافتی انتقال‌دهنده‌های ABC که به میزان زیادی در سدهای حفاظتی مهم چون سد خونی- مغزی، غشای سلول‌های لوله‌ی گوارش، غشای هپاتوسیت‌ها و توبول‌های کلیوی، گسترده هستند، شاهدی بر این نقش اساسی است (شکل ۱) (۱۷، ۱۲، ۳).



شکل ۱. پراکندگی انتقال دهنده‌های ABC در سدهای حفاظتی دارویی (حروف نشان دهنده‌ی نوع انتقال دهنده‌ی ABC هستند) (۱۲)

همان طور که اشاره شد، از میان عوامل متعدد، افزایش بیان انتقال دهنده های ABC در سلول های قرارگیرنده در معرض دارو، اصلی‌ترین عامل بروز پدیده‌ی MDR محسوب می‌شود (۳). به MDR ناشی از این انتقال دهنده ها در اصطلاح MDR کلاسیک گفته می‌شود (۱۱). در بررسی‌های کشت سلول، دخالت حداقل ۱۲ عضو از این خانواده در ایجاد مقاومت دارویی کلاسیک به اثبات رسیده است (۱۲). در میان این اعضا، بیشترین پژوهش‌ها بر روی سه ژن ABCB1 (Multidrug resistance 1 یا MDR1)، ABCC1 (Multidrug resistance-associated protein 1 یا MRP1) و ABCG2 (Breast cancer resistance protein یا BCRP) صورت گرفته است. پژوهشگران معتقد هستند که بیان بالای این سه ژن در اکثر سلول‌های سرطانی منشأ بروز MDR است (۱۹-۱۷، ۱۵، ۱۱، ۲)؛ هر چند با بررسی سایر اعضای این خانواده نیز نتایجی در خور توجه، حاصل شده است (۲۲-۲۰).

روش‌ها

در این مقاله با هدف بررسی تکنیک‌های جدید رفع پدیده‌ی MDR، مقالات موجود در پایگاه مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی آمریکا (NCBI یا National Center for Biotechnology Information) مورد مطالعه قرار گرفتند. این مقالات شامل دو گروه مقالات پایه و مقالاتی بودند که به تازگی به چاپ رسیده بودند. واژگان کلیدی مورد استفاده برای جستجوی این مقالات در بخش شامل مقاومت دارویی، انتقال‌دهنده‌های متصل‌شونده به ATP، تعدیل‌کننده‌های انتقال‌دهنده‌ی غشایی، سیستم‌های تحویل دارو، سیستم RNA مداخله‌گر بودند.

یافته‌ها

روش‌های غلبه بر MDR

از آن جایی که مکانیسم های پیچیده و متعددی موجب بروز مقاومت دارویی می‌شوند، باید شیوه‌های متنوعی نیز برای غلبه بر این مکانیسم ها مد نظر قرار گیرند

(۲۳). در مورد عمده‌ترین عامل ایجاد MDR، یعنی افزایش بیان انتقال دهنده های ABC، حذف یا غیر فعال‌سازی تمام این انتقال‌دهنده‌ها با توجه به نقش فیزیولوژیکی و داروشناسی آن‌ها در بدن، ممکن نخواهد بود (۱۵). از زمان کشف دلیل اصلی بروز MDR، تلاش‌های محققین در جهت رفع آن آغاز شده است و عمده‌ی این تلاش‌ها بر ابداع شیوه‌هایی با حداکثر تأثیر اختصاصی بر روی سلول‌های نشان‌دهنده‌ی فنوتیپ MDR، متمرکز بوده‌اند. از میان شیوه‌های متنوع، بیشترین بررسی‌ها در سه زمینه صورت گرفته‌اند: ۱- مهار یا تعدیل پروتئین های انتقال‌دهنده با استفاده از انواع مواد شیمیایی، ۲- تحویل اختصاصی داروهای شیمی‌درمانی با استفاده از انواع سیستم‌های تحویل دارو (Drug delivery) و ۳- کاهش سطح بیان انتقال‌دهنده‌های ABC در سطح mRNA. در ادامه نتایج تلاش‌های صورت‌گرفته توسط محققین در این سه حوزه‌ی عمده به تفصیل بررسی می‌شوند.

تعدیل کننده‌های شیمیایی

اولین تعدیل‌کننده (Modulator)، مهارکننده (Inhibitor) یا به عبارت دیگر حساس‌کننده‌ی شیمیایی (Chemosensitizer)، در سال ۱۹۸۹ علیه ژن ABCB1، توسط Tsuruo و همکاران شناسایی شد (۲۴). این ماده‌ی مسدودکننده‌ی کانال کلسیم، وراپامیل (Verapamil)، توانست سلول‌های لوسمی مقاوم به وینکریستین را به این دارو و نیز وینبلاستین، بار دیگر حساس سازد. در مجموع، تعدیل‌کننده‌های انتقال‌دهنده‌های ABC، با اتصال رقابتی به دمین‌های متفاوت این پروتئین ها، به داروهای شیمی‌درمانی همراه این امکان را می‌دهند تا در سلول تجمع یابند و به سطح آستانه‌ی سمیت برای سلول‌های مقاوم برسند (۲۵، ۱۱، ۳). عامل مناسب رفع MDR، مؤثر است، اثرات دارویی ناخواسته ندارد، با داروهای شیمی‌درمانی میانکنش دارویی نمی‌دهد و تأثیر دارو را به وضعیتی که در فنوتیپ MDR وجود دارد، باز می‌گرداند (۱۲-۱۱). تعدیل‌کننده‌ها بر اساس میزان تمایل به پروتئین های انتقال دهنده و سمیت نسبی برای سلول‌های سالم به سه نسل تقسیم می‌شوند (۱۱). نسل اول تعدیل‌کننده‌ها از جمله وراپامیل و سیکلوسپورین A، د رواقع داروهایی با سایر مصارف پزشکی بوده‌اند که اثر آن ها بر رفع MDR بعدها به طور تصادفی مشخص شد (۱۲-۱۱). با وجود نتایج امیدوارکننده در سطح In vitro (۲۶)، نتایج تلاش‌های بالینی رضایت‌بخش نیستند. دو مشکل عمده در مورد این ترکیبات، عدم تأثیر قابل قبول در دوزهای پایین و بروز سمیت در دوزهای بالا می‌باشد (۲۷، ۱۲). علت این پدیده تمایل پایین اتصال این مواد به انتقال‌دهنده عنوان می‌شود (۲۵، ۱۱). از طرفی، این عوامل برای برخی از انتقال دهنده‌ها و سیستم های آنزیمی، سوبسترا محسوب می‌شوند و در نتیجه در حضور داروهای شیمی‌درمانی، میانکنش‌های دارویی ناخواسته را موجب می‌شوند (۲۵). پس از عدم موفقیت مهارکننده‌های نسل اول، مهارکننده‌های نسل دوم با تمرکز بر انتقال دهنده های ABC سنتز شدند. این مواد که به طور عمده از مشتقات نسل اول هستند (۲۷)، با وجود تأثیر بیشتر و سمیت کمتر (۲۵، ۳، ۱)، در ترکیب با داروهای شیمی‌درمانی، عوارض جدی نشان می‌دهند و تا حدی متابولیسم دارو و پاک‌سازی آن را از بدن با اختلال مواجه می‌کنند (۲۵، ۱۲، ۳). نسل سوم حساس‌کننده‌های شیمیایی برای بهبود مهارکننده‌های نسل دوم و به طور اختصاصی با تمایل

بالا برای انتقال دهنده‌ی ABC و میان‌کنش دارویی پایین طراحی شدند (۲۸، ۱۲-۱۱، ۶) و نسبت به آن ها انتخابی‌تر هستند. حساس‌کننده‌های شیمیایی نسل سوم در محدوده‌ی نانومولار اثر می‌کنند و سمیت پایینی علیه سلول‌های سالم دارند (۲۵، ۱۱).

علاوه بر این سه نسل، نسل چهارمی از مهارکننده‌ها توجه محققین را به خود معطوف کرده است که حداقل اثرات جانبی را نشان دهند. این مهارکننده‌ها، مواد و ترکیبات طبیعی هستند و از آن جایی که از اجزای ضروری رژیم غذایی انسان محسوب می‌شوند، انتظار بر این است که در حداکثر دوز، حداقل سمیت را برای بیمار ایجاد نمایند (۱۱). از طرفی ثابت شده است که بسیاری از این ترکیبات اثرات وسیع‌الطیفی بر روی بیش از یک انتقال دهنده‌ی ABC دارند. برای مثال تترامتیل پیرازین (Tetramethylpirazine)، از ترکیبات موجود در ریشه‌ی یک گیاه چینی است و قادر می‌باشد بیان MDR1، MRP2، MRP3 و MRP5 را در سلول‌های کارسینومای مقاوم به دارو کاهش دهد (۲۹). در پژوهشی دیگر با استفاده از پایپرین (Piperine)، آلکالوییدی از گیاه فلفل سفید، علاوه بر مهار انتقال‌دهنده‌های MDR1، MRP1 و BCRP، سطح بیان آن‌ها نیز کاهش یافت (۲۹). بررسی‌ها تأثیرات کم و بیش مشابهی را برای بسیاری دیگر از ترکیبات طبیعی در محیط In vitro، ثابت کرده‌اند (۳۱-۳۰). نتایج مطالعات In vivo نیز در مورد این ترکیبات رضایت‌بخش بوده‌اند (۲).

با وجود تمامی این تفصیلات، استفاده از تعدیل کننده های ABC، هنوز به سطح کاربردهای بالینی رایج نرسیده است (۱). دلایل مختلفی برای این مشکل از جمله میان‌کنش‌های غیر قابل پیش‌بینی مهارکننده‌ها، تأثیرات غیر اختصاصی آن ها بر بافت های سالم، تفاوت‌های بین فردی در سطح بیان انتقال‌دهنده‌ها و محدود بودن بررسی‌های بالینی صورت‌گرفته، عنوان می‌گردد (۲۷، ۱۲، ۳، ۱).

سیستم‌های تحویل دارو

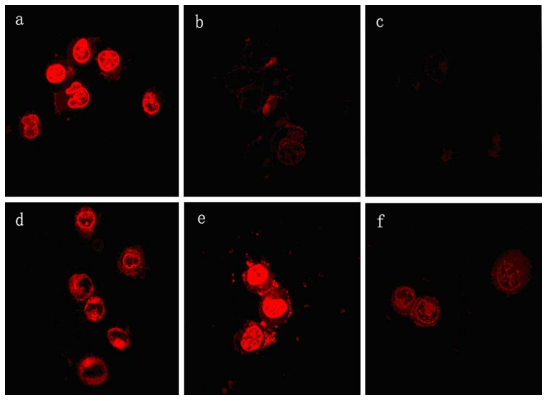
با پیشرفت نانوتکنولوژی، برخی از نانومواد توجه زیادی را در زمینه‌ی تشخیص و درمان بیماری‌ها از جمله غلبه بر مقاومت دارویی سلول‌ها به خود معطوف کرده اند (۳۴-۳۲). نانوذرات متنوع این امکان را فراهم می‌کنند که تحویل داروهای شیمی‌درمانی و تعدیل‌کننده‌های شیمیایی به سلول‌های توموری یا ریزمحیط حمایت‌کننده از آن ها، از نظر زمانی و مکانی تحت کنترل قرار گیرد (۳۶-۳۵، ۲۳) و به این ترتیب اثرات جانبی سیستمیک و آسیب به بافت‌های غیر هدف به حداقل برسد (۳۷-۳۶). یکی از دلایل این تحویل اختصاصی، بالا بودن میزان رگ‌زایی و نقص در پاک‌سازی لنفاوی بافت‌های توموری است که موجب افزایش حفظ دارو در این ناحیه می‌گردد (۳۷). محققین در هنگام طراحی یک حامل تحویل دارو، ویژگی‌های مختلفی از نانوذره را مورد توجه قرار می‌دهند که از آن جمله می‌توان به اندازه‌ی نانوذره، پایداری نانوذره‌ی بارگذاری‌شده قبل از استفاده، نیمه عمر آن در جریان خون، اختصاصیت پراکنش زیستی نانوذره، سهولت تولید و سرنوشت زیستی یعنی تجمع، تجزیه و یا پاکسازی آن اشاره کرد (۳۸، ۳۵). مکانیسم هایی که سیستم های تحویل دارو برای غلبه بر مقاومت دارویی ناشی از انتقال دهنده های ABC به کار می‌گیرند به طور عمده عبارتند از: ۱- مهار پروتئین های انتقال‌دهنده‌ی ABC به وسیله‌ی پلیمرهای

سازنده‌ی حامل دارو، ۲- تجمع موضعی انواع محموله‌های درمانی در اطراف سلول‌های هدف و در نتیجه افزایش جذب آن‌ها، ۳- افزایش جذب دارو از طریق اندوسیتوز حامل‌های دارو (۴۰-۳۹) و ۴- عدم توانایی انتقال‌دهنده‌ی ABC در خروج داروی متصل به نانوذره (۴۲-۴۱، ۳۹). به این ترتیب غلظت داخل سلولی داروهای شیمی‌درمانی و یا تعدیل‌کننده‌های شیمیایی در سلول هدف، افزایش می‌یابد و با رسیدن به حد آستانه، اثر خود را بر سلول نشان خواهد داد (۳۵). نانوذرات محموله‌های خود را در دو ناحیه آزاد می‌کنند: ۱- در خارج از سلول‌ها، در ناحیه‌ی ریزمحیط آن. در این حالت دارو به شیوه‌های مختلف مانند انتشار، انتقال فعال و یا اندوسیتوز به واسطه‌ی گیرنده، به داخل سلول راه می‌یابد. ۲- در داخل سلول هدف. در این حالت دارو از طریق اندوسیتوز به واسطه‌ی گیرنده، همراه با محموله‌ی خود وارد می‌شود. حامل باید بتواند تمامیت خود را در شرایط سخت لیزوزومی حفظ نماید و از دارو محافظت کند تا به سیتوزول منتشر گردد (۳۵).

نانوذرات متنوعی توسط محققین طراحی و تولید شده‌اند که هر کدام به شیوه‌ای محموله‌های خود را به سلول هدف تحویل می‌دهند و بر MDR، غلبه می‌نمایند. برای مثال در سال ۱۹۹۹ لیپوزوم‌های حساس به حرارت ساخته شدند که با حرارت‌دهی ملایم تومور تا ۴۲-۴۱ درجه‌ی سانتی‌گراد، میزان زیادی از دارو را آزاد می‌کردند. این لیپوزوم‌ها توانستند موجب پسرفت کامل تومور زنوگرافت (Xenograft) انسانی مورد آزمایش گردند (۴۳). لیپوزوم‌ها با تجمع در بافت توموری، روزها پس از تزریق رگی در محل باقی می‌مانند و سطح دارو را به بیش از ۱۰ برابر حالتی که دارو به صورت محلول تجویز گردد، می‌رسانند. این کار می‌تواند تا حدودی بر MDR غلبه کند (۴۲، ۲۳). یکی از مزایای فرمولاسیون لیپوزومی سرعت پاک‌سازی مناسب آن از بدن و حداقل میان‌کنش آن با انتقال‌دهنده‌ها عنوان می‌شود (۴۴). با این وجود برخی محققین معتقد هستند که لیپوزوم‌ها به دلیل آزادسازی آرام یا میزان پایین دسترسی به داروهای بارگذاری‌شده و از طرفی پایداری فیزیکی محدود آن‌ها، ابزارهای مناسبی برای کاربردهای بالینی نیستند (۴۱).

از دیگر نانوذره‌های حامل که برای رفع MDR به کار گرفته شده‌اند، میسل‌ها هستند. میسل‌ها از کوپلی‌مرهای دوگانه‌دوست سنتز می‌شوند (۴۵) که دارای یک پوشش و یک هسته هستند و به دلیل سازگاری زیستی، نیمه عمر بیشتر در جریان خون نسبت به لیپوزوم، توانایی حل کردن داروهای هیدروفوب در هسته بدون از دست دادن توانایی هدف‌گیری و تحویل اختصاصی دارو، مورد توجه قرار دارند (۴۵، ۴۰). از طرفی برخی محققین مشاهده کرده‌اند که میسل‌ها اثر سمیت داروی بارگذاری‌شده را نیز افزایش می‌دهند (۴۶). یکی از میسل‌های پلیمریک پر کاربرد، میسل PEG-b-PLA (Polyethylene glycol-b-polylacticacid) است که از دو واحد پلیمری پلی‌اتیلن گلیکول و پلی‌لاکتیک اسید، ساخته می‌شود. این میسل‌ها همراه با محموله‌ی خود از طریق اندوسیتوز وارد سلول می‌شوند و علاوه بر کمک به تجمع دارو در درون سلول، فعالیت ATPآزی انتقال دهنده را نیز مهار می‌کنند. دلیل اثر اخیر، القای دپولاریزاسیون و افزایش ریزچگالی (Microviscosity) غشای سلولی، توسط واحدهای سازنده ی میسل عنوان می‌شود (۴۰). Han و همکاران در یک پژوهش

In vitro، یک میسل ترکیبی شامل پلیمرهای PEG، PCL (Polycaprolactone) و P105 (Pluronic 105)، را ساختند و با داروی DOX، بارگذاری نمودند (۴۵) و برای اولین بار مکانیسم به کار گرفته‌شده توسط میسل‌های ترکیبی را در جهت رفع MDR، مورد بررسی قرار دادند. این گروه دریافتند که جزء پلیمری P105، با ایجاد اختلال در پتانسیل غشای میتوکندریایی، سطح ATP را به شدت پایین می‌آورد و فعالیت پروتئین انتقال‌دهنده را محدود می‌کند. از طرفی اجزای PEG و PCL، موجب ورود میسل ازطریق اندوسیتوز می‌گردند. این دو ویژگی مکمل در نهایت موجب حضور طولانی تر DOX بارگذاری شده درون میسل نسبت به داروی محلول، در سیتوپلاسم و هسته‌ی سلول‌های مقاوم می‌شود (شکل ۲) (۴۵).



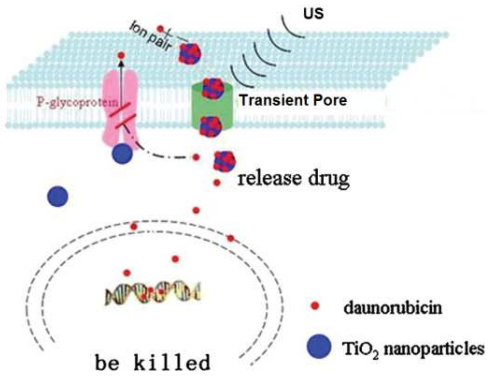
شکل ۲. تصویر گرفته شده توسط میکروسکوپ گذاره‌ی لیزری از سلول‌های لوسمیک مقاوم به DOX که با محلول DOX (ردیف بالا) یا میسل حاوی DOX (ردیف پایین)، تیمار شده‌اند. a و d: ۳۰ دقیقه، b و e: ۲ ساعت، c و f: ۶ ساعت پس از تیمار با دارو (۴۵)

از دیگر حامل های نانو می توان به نانوذرات پلی آلکیل سیانو آکریلات (Polyalkylcyanoacrylate یا PACA) (۴۷)، پلی‌لاکتید گلیکولید اسید (Poly D,L-lactide-co-glycolide acid یا PLGA) (۴۸-۴۹)، طلا (۴۱) و نانوذرات لیپید جامد (SLN یا Solid lipid nanoparticle) (۳۷) اشاره کرد. محیط اسیدی موجب آزادسازی بیشتر ماده‌ی بارگذاری‌شده در این نانوذرات SLN می شود. این محیط اسیدی در اطراف سلول های مقاوم به دارو وجود دارد و تا حدی تأثیر این حامل ها را اختصاصی می‌کند (۳۷). فرم اصلاح‌شده‌ی SLN، نانوذره‌ی هیبرید پلیمر لیپید (Polymer-lipid hybrid nanoparticle یا PLN) است که دارای یک پلیمر آنیونی برای تسهیل بارگذاری داروهای کاتیونی محلول در آب می‌باشد (۳۹).

نانوذره‌ی تیتانیوم دی‌اکسید (TiO_2) به دلیل پایداری شیمیایی، سازگاری زیستی و سمیت بسیار ضعیف، بیشتر از دیگر نانوذرات مورد توجه محققین است (۳۴). Song و همکاران با استفاده از امواج فرابنفش (Ultra violet یا UV)، توانستند میزان بیشتری از DNR متصل به این نانوذره را وارد سلول های مقاوم کنند (۳۸). تأثیر امواج UV به دلیل ایجاد گونه های فعال اکسیژن از TiO_2 می‌باشد که با حمله به غشای سلولی، ورود دارو و جفت یون های نانوذره را افزایش می دهد. همان طور که پیش از این امواج فراصوت (Ultra sound یا US) برای افزایش بارگذاری دارو درون لیپوزوم‌ها یا افزایش اتصال آن‌ها به نانوذرات PLN استفاده شده است (۵۰، ۳۹)، محققین این امواج را برای افزایش نفوذپذیری غشای سلولی هدف و تسهیل آزادسازی دارو در داخل سلول به کار گرفته‌اند (شکل ۳) (۳۶، ۳۴).

با وجود تلاش های فراوان محققین در زمینه ی به کارگیری سیستم‌های تحویل دارو در جهت رفع پدیده‌ی MDR، گزارشی از غلبه بر مقاومت دارویی به کمک تحویل ترکیبات دارویی به وسیله‌ی نانوذرات

در حوزه ی بالینی موجود نیست (۳۵)؛ هر چند تلاش ها در این زمینه همچنان ادامه دارد و امیدوارکننده است (۵۱).



شکل ۳. تصویری شماتیک از نحوه‌ی اثر نانوذرات TiO_2 و امواج فراصوت در مهار انتقال‌دهنده‌ی ABC (P-گلیکوپروتئین) و غلبه بر MDR در سلول مقاوم به دارو (۳۴)

کاهش سطح بیان mRNA از طریق مسیر RNA مداخله‌گر (RNA interference pathway یا RNAi)

مسیر RNA مداخله‌گر (RNAi)، یک سیستم پس‌رونویسی (Post Transcriptional) خاص توالی (Sequence specific) در گیاهان و حیوانات است که با میانجی‌گری مولکول‌های RNA دو رشته‌ای کوتاه به نام RNA مداخله‌گر کوچک (siRNA یا small interferencing RNA)، موجب خاموشی بیان ژن می‌گردد (۵۲، ۸). siRNAها، مولکول‌های کوتاه ۲۵-۲۱ نوکلئوتیدی هستند که به صورت اندوژن، از طریق شکستن RNAهای دو رشته ای بلند توسط آنزیمی به نام Dicer، تولید می‌شوند.

سپس siRNA به کمپلکس چند پروتئینه‌ی RISC (RNA-induced silencing complex) متصل می‌شود و مارپیچ دو رشته‌ای آن به وسیله‌ی این کمپلکس، باز می‌شود (۵۵-۵۳). الیگونوکلئوتید حاصل، دارای توالی مکمل یک mRNA هدف خاص خواهد بود که به کمک کمپلکس RISC، آن را برش می‌دهد و حذف می‌کند (۵۵، ۳).

از زمان اثبات این که مسیرهای RNAi خاموش‌کننده‌ی ژن را می‌توان با استفاده از تیمار سلول‌های پستانداران با siRNA، در آن‌ها راه‌اندازی کرد (۵۶)، تکنولوژی RNA مداخله گر به عنوان ابزاری قوی به امید کاربردهای درمانی، به آزمایشگاه های تحقیقات زیست‌شناسی و پزشکی راه یافت (۵۷). خاموشی ژن به وسیله‌ی سیستم RNAi، به دلیل ویژگی بالا برای ژن هدف، سمیت و ایمنی‌زایی محدود و سهولت نسبی سنتز RNA مداخله گر، برای تنظیم اهداف پروتئین خاص، مؤثرتر از شیوه‌هایی است که تاکنون از آن‌ها یاد شده است (۵۳).

این تکنولوژی در پژوهش های فراوانی برای القای خاموشی بیان بسیاری از ژن‌های مؤثر در بروز یا تشدید بیماری‌ها و عوارض آن‌ها، از جمله پدیده‌ی MDR، استفاده شده است. نخستین بار، پژوهش Nieth و همکاران شواهدی را برای خاموش‌سازی ژن‌های مربوط به مقاومت دارویی چندگانه در سلول های توموری مقاوم، به وسیله ی siRNA، ارائه داد (۵۸). از آن پس بررسی‌های متعددی در این حوزه، نتایج امیدوار کننده‌ای را نشان دادند (۶۰-۵۹).

برای افزایش پایداری و بازده siRNAها، ویژگی های ساختاری خاصی از جمله محتوای ۵۲-۳۰ درصدی بازهای G/C و توالی U/A در انتهای '۵ رشته‌ی آنتی‌سنس RNA، توصیه می‌شوند (۵۳). از طرفی تجربه نشان داده است که برای کاهش اثرات غیر اختصاصی این مولکول‌ها، غلظت مورد استفاده نیز باید به دقت تعیین گردد (۸). هر چند استفاده از نوکلئیک اسیدهای برهنه سهولت بیشتر و ایمنی زایی

پایین‌تری دارد (۵۲)، با توجه به نیمه عمر پایین siRNA برهنه در محیط فیزیولوژیک، شیوه‌هایی برای افزایش بازده ورود این مولکول‌ها به درون سلول لازم بود. Xia و همکاران توانستند با استفاده از وکتورهای پلاسمیدی بیان‌کننده‌ی siRNA مکمل mRNA ژن MDR1، بیان این ژن را به صورت پایدار در سلول‌های مقاوم سرطان کولون، مهار کنند (۶۱).

یکی دیگر از سدهای استفاده از siRNA این است که این مولکول قادر به گذر از غشا و ورود به سلول نیست (۶۲). در نتیجه دانشمندان از حامل های مختلف که مسیری مشابه حامل‌های دارو را در پیش می‌گیرند، برای ورود این RNAها به سلول استفاده کرده‌اند. این حامل ها در عین حال از مولکول محموله در برابر حمله نوکلئازها نیز حفاظت می‌کنند (۵۳). هر دو نوع تحویل ویروسی و غیر ویروسی siRNAها، در حال پیشرفت هستند. استفاده از حامل های ویروسی به خصوص ویروس وابسته به آدنو (Adeno-associated virus یا AAV)، به دلیل توانایی آن در ورود به سلول‌های در حال تقسیم و غیر آن، مورد بررسی‌های فراوانی واقع شده است (۶۳، ۵۳). هر چند استفاده از این سیستم می‌تواند بیان ژن‌های هدف مانند ژن‌های مرتبط با MDR را به طور قابل توجهی کاهش دهد (۶۲)، اما پاسخ های ایمنی ناخواسته، التهاب بافت‌های هدف و نوترکیبی‌های ویروسی، استفاده‌ی بالینی از این شیوه را دور از انتظار می نماید (۶۲، ۵۲). تاکنون دانشمندان حامل‌های غیر ویروسی متنوعی را برای تحویل siRNA، مورد استفاده قرار داده اند. عباسی و همکاران با استفاده از پلیمرهای لیپیدی اصلاح شده‌ی کاتیونی، موفق به تحویل siRNA ضد MDR1 به سلول‌های مقاوم، سرکوبی ۵۰-۴۰ درصدی بیان P-gp و افزایش ۳ برابری جذب DOX شدند (۶۲). از دیگر حامل های لیپیدی پر کاربرد در این زمینه لیپوفکتامین ۲۰۰۰ (Lipofectamine™ 2000) و الیگوفکتامین (Oligofectamine)، هستند که با وجود استفاده‌ی موفقیت‌آمیز در In vitro (۸) و In vivo (۶۴-۶۳)، به دلایلی از جمله ایمنی زایی و عدم پایداری در شرایط فیزیولوژیک، برای کاربردهای بالینی مورد توجه نیستند (۵۳). از جمله دیگر حامل های مورد استفاده می توان به پلیمرهای کاتیونی مانند پلی اتیلن آمین (Polyethyleneimine یا PEI) و پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر (PEO-b-PCL یا Poly ethyleneoxide-block-Poly 3-caprolactone)، اشاره کرد (۵۳).

یکی از معایب siRNA، نیمه عمر کوتاه آن عنوان می شود (۸) که با وجود انجام دستکاری های شیمیایی این مولکول ها (۵۳)، به میزان قابل قبولی نرسیده است. علت اهمیت این نیمه عمر کوتاه، نیمه عمر طولانی انتقال‌دهنده‌های ABC، مانند P-gp، هم در سطح mRNA و هم در سطح پروتئین است که موجب می شود میزان آن حدود ۷ روز پس از استفاده از siRNA، به سطح اصلی خود بازگردد (۹، ۳). از طرفی siRNAهای تحویل شده به سلول، اثر ناپایدار و گذرایی بر روی بیان ژن دارند (۶۵، ۶۳، ۸). بر این اساس برای اثر طولانی مدت و پایدار سیستم RNAi، وکتورهای بیانی گسترش یافتند که رونوشت های شبیه siRNA یعنی RNAهای سنجاق سری کوتاه (shRNA یا short-hairpin RNA) را تولید می‌کنند (۶۵، ۵۵). اولین وکتور بیانی shRNA، توسط Brummelkamp و همکاران تولید و به کار گرفته شد (۶۶). به طور معمول در این وکتورها از پروموترهای قوی همچون

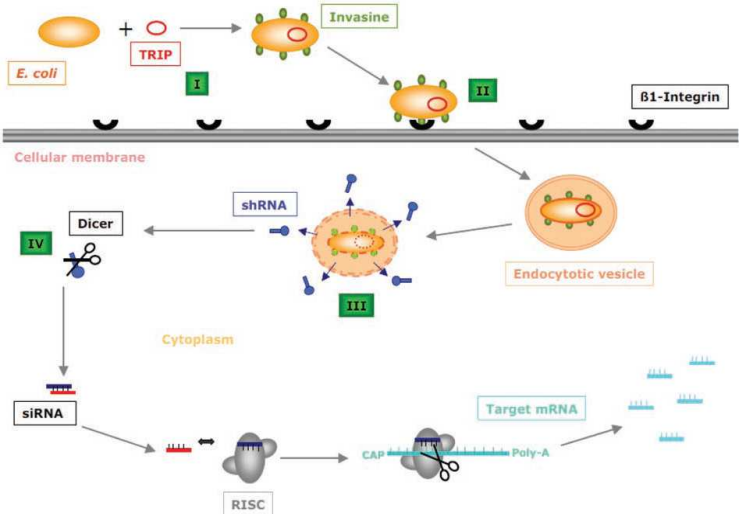
پروموترهای RNA پلیمراز II یا III مانند پروموترهای H_1-RNA و U_6-RNA، استفاده می‌شود (۶۵، ۵۴). در این میان سیستم های بیانی RNA پلیمراز III پتانسیل بالاتری را در بیان پایدار مولکول های shRNA هم در In vitro و هم در In vivo نشان داده‌اند (۶۷). پس از تشکیل shRNA، مولکول حاصل به siRNA، پردازش می‌شود و مسیر طبیعی خود را پی می‌گیرد (۸).

برای تحویل وکتورهای بیانی همانند siRNA، حامل های عملکردی لازم هستند (۵۳). Kaszubiak و همکاران توانستند سلول‌های سرطانی مقاوم را با تحویل آدنوویروسی shRNA، به طور مجدد حساس کنند (۶۵). پژوهش‌های موفق In vivo نیز در زمینه‌ی استفاده از حامل های ویروسی برای تحویل وکتورهای shRNA صورت گرفته‌اند (۶۸). در پژوهشی دیگر تزریق داخل وریدی DNA پلاسمیدی بیان‌کننده‌ی shRNA، توانست سطح بیان mRNA متعلق به MDR1 را در کبد موش تا حدود ۵۰ درصد کاهش دهد (۶۹). از طرفی استفاده از نانوذرات نیز به کاهش سمیت و افزایش بازده ورود وکتورهای بیانی کمک می‌کند (۹).

شیوه‌ی جدید غلبه بر مانع مهم تحویل عوامل RNAi به سلول‌های هدف، سیستم tkRNAi (Transkingdom RNAi) است (۷۰). در این فناوری از باکتری‌های غیر بیماری‌زا مانند E.coli، برای تولید و تحویل shRNA درمانی به سلول های هدف استفاده می‌شود (۷۰، ۵۷) (شکل ۴).

در کنار پژوهشگرانی که به دنبال افزایش پایداری اثر سیستم RNAi هستند، برخی دیگر معتقد هستند که بیان موقتی RNAهای مداخله گر برای کاربردهای بالینی مناسب‌تر هستند (۵۸). از میان دلایل این گروه می‌توان به بیان بالای انتقال‌دهنده‌های ABC در بافت‌های طبیعی و امکان استفاده از درمان‌های ترکیبی همراه با siRNAهایی که به طور شیمیایی سنتز می‌شوند، اشاره کرد (۵۸، ۸).

در کنار حامل‌های متنوع، پژوهشگران از تکنیک‌های فیزیکی مختلفی نیز برای وارد کردن RNAهای سنتزی برهنه به سلول های هدف استفاده می‌کنند (۵۲). یکی از این تکنیک‌ها که نتایج رضایت‌بخشی را نیز در سطح In vivo نشان داده است



شکل ۴. تصویری شماتیک از سیستم tkRNAi. ورود باکتری E.coli حاوی وکتور TRIP بیان‌کننده‌ی اینوازین، بیان shRNA و تجزیه‌ی mRNA هدف (۵۷).

(۷۱)، Electroporation نام دارد. در این روش اعمال شوک الکتریکی به بافت‌های توموری، سلول‌های آن‌ها را برای دریافت ماده‌ی تزریقی آماده می‌کند. البته این تکنیک تنها برای تومورهایی قابل استفاده است که در نواحی جلدی و زیرجلدی قرار دارند و این موضوع کاربرد آن را محدود می‌کند (۶۳). Stein و همکاران برای اولین بار از تکنیک Jet-Injection برای تحویل مستقیم داخل توموری وکتورهای بیانی shRNA برهنه، استفاده کردند و توانستند سطح بیان mRNA متعلق به P-gp را بیش از ۹۰ درصد کاهش دهند (۵۲). در این شیوه از پرتاب های با سرعت بالا استفاده می‌شود که وکتور را از عرض پوست می‌گذراند و به عمق بافت‌های هدف، داخل می‌کند (۵۲).

سایر شیوه‌های غلبه بر MDR ناشی از انتقال‌دهنده‌های ABC

علاوه بر سه شیوه ی عمده ذکرشده، پژوهشگران از تکنیک‌های دیگری نیز برای غلبه بر عملکرد انتقال‌دهنده‌های ABC استفاده می‌کنند. بررسی ترکیبات دارویی جهت تعیین این که آیا سوبسترای این پروتئین‌ها هستند یا خیر و عدم استفاده از داروهای سوبسترا، یکی از راه‌های ممانعت‌کننده از عملکرد این انتقال‌دهنده‌ها است (۷۲). استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال که به طور عمده به منظور هدف‌گیری لوپ‌های خارج سلولی پروتئین‌های ABC طراحی می‌شوند (۳)، نیز تکنیکی در دست بررسی است (۷۳). برای اولین بار Tsuruo و همکاران در پژوهشی In vivo توانستند با استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال ویژه ی P-gp، رشد تومور مقاوم را مهار کنند (۷۴). مشکل بالینی استفاده از آنتی‌بادی‌ها، ایمنی‌زایی و اثرات جانبی احتمالی ناشی از میان‌کنش با انتقال‌دهنده‌ی موجود در بافت‌های طبیعی است (۴۴)، که می توان با طراحی پپتیدهای کوچک تر آن را کاهش داد (۱۲). مهار مسیرهای پیام‌رسانی (۷۵) و استفاده از الیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس (۷۶) نیز از شیوه‌های کاربردی دیگر هستند.

برای سرکوب بیان انتقال‌دهنده‌های ABC، استفاده از miRNA (MicroRNA) (۷۷) و ریبوزیم های سر چکشی (۷۸) نیز در دست بررسی می‌باشد. miRNA با شیوه‌ای مشابه siRNA عمل می‌کند (۵) و ریبوزیم های سر چکشی، RNAهای کاتالیتیک هستند که می‌توانند تجزیه‌ی mRNAهای ویژه را هدف‌گیری کنند (۷۹).

بحث

مقاومت دارویی چند گانه، عامل عمده‌ی ناکامی در به کارگیری شیمی‌درمانی برای بیماران مبتلا به انواعی از سرطان‌ها محسوب می‌شود. اعضای خانواده‌ی انتقال‌دهنده‌های ABC، اصلی‌ترین نقش را در ایجاد مقاومت دارویی در سلول های توموری ایفا می‌کنند. پژوهشگران از زمان کشف این موضوع در صدد بوده‌اند تا با به خدمت گرفتن انواع مواد و تکنیک‌های موجود، به شیوه های مختلف بر اثر این انتقال دهنده ها فایق آیند. از جمله تکنیک های پر کاربرد، طراحی، تولید و به کارگیری مواد شیمیایی تعدیل کننده ی این انتقال‌دهنده‌ها بوده است. تکنیک نتیجه‌بخشی که بیان پروتئین‌های ABC را در سطح mRNA کاهش می‌دهد و یا به طور کامل سرکوب می کند، سیستم RNAi نام دارد که از طریق به کارگیری مولکول siRNA و RNAsh، اعمال می شود. دیگر تکنیک مورد پژوهش، استفاده از انواع سیستم‌های تحویل دارو برای تحویل

داروهای تعدیل‌کننده و عوامل سیستم RNAi است. با توجه به پراکندگی گسترده‌ی انتقال دهنده‌های ABC، در بافت‌های متنوع و نیز گستردگی سوبسترایی این انتقال‌دهنده‌ها، موفقیت‌های بالینی در کنترل هدفمند بیان و عملکرد آن ها در بافت توموری چندان قابل توجه نیستند. از طرفی، کار بالینی بر روی بیماران مبتلا به سرطان که بیماری آن‌ها همراه با مقاومت دارویی عود کرده است، حساس می‌باشد. پژوهش‌های بالینی بیشتر و بررسی تکنیک های اختصاصی تر و مؤثرتر برای هدف‌گیری انتقال دهنده‌های ABC در سطوح مختلف بیانی و عملکردی، راهی به نسبت طولانی است که پیش روی محققین قرار دارد.

References

1. Aouali N, Eddabra L, Macadre J, Morjani H. Immunosuppressors and reversion of multidrug-resistance. Crit Rev Oncol Hematol 2005; 56(1): 61-70.
2. Sim HM, Wu CP, Ambudkar SV, Go ML. In vitro and in vivo modulation of ABCG2 by functionalized aurones and structurally related analogs. Biochem Pharmacol 2011; 82(11): 1562-71.
3. Wu CP, Calcagno AM, Ambudkar SV. Reversal of ABC drug transporter-mediated multidrug resistance in cancer cells: evaluation of current strategies. Curr Mol Pharmacol 2008; 1(2): 93-105.
4. Burchenal JH, Robinson E. The induction of resistance to 4-amino-N10-methylpteroylglutamic acid in a strain of transmitted mouse leukemia. Science 1950; 111(2875): 116.
5. Gong J, Jaiswal R, Mathys JM, Combes V, Grau GE, Bebawy M. Microparticles and their emerging role in cancer multidrug resistance. Cancer Treat Rev 2012; 38(3): 226-34.
6. Sirisha K, Shekhar MC, Umasankar K, Mahendar P, Sadanandam A, Achaiah G, et al. Molecular docking studies and in vitro screening of new dihydropyridine derivatives as human MRP1 inhibitors. Bioorg Med Chem 2011; 19(10): 3249-54.
7. Abedi M, Rahgozar S, Moafi AR. Molecular mechanisms of drug resistance in acute lymphoblastic leukemia. Proceedings of the 6th Annual Congress of Iranian Blood and Pediatric Cancer Society; 2012 Feb 8-10; Ahwaz, Iran. p. 74.
8. Donmez Y, Gunduz U. Reversal of multidrug resistance by small interfering RNA (siRNA) in doxorubicin-resistant MCF-7 breast cancer cells. Biomed Pharmacother 2011; 65(2): 85-9.
9. Chen BA, Mao PP, Cheng J, Gao F, Xia GH, Xu WL, et al. Reversal of multidrug resistance by magnetic Fe3O4 nanoparticle copolymerizating daunorubicin and MDR1 shRNA expression vector in leukemia cells. Int J Nanomedicine 2010; 5: 437-44.
10. Kofler R, Schmidt S, Kofler A, Ausserlechner MJ. Resistance to glucocorticoid-induced apoptosis in lymphoblastic leukemia. J Endocrinol 2003; 178(1): 19-27.
11. Ullah MF. Cancer multidrug resistance (MDR): a major impediment to effective chemotherapy. Asian Pac J Cancer Prev 2008; 9(1): 1-6.
12. Szakacs G, Paterson JK, Ludwig JA, Booth-Genthe C, Gottesman MM. Targeting multidrug resistance in cancer. Nat Rev Drug Discov 2006; 5(3): 219-34.
13. See YP, Carlsen SA, Till JE, Ling V. Increased drug permeability in Chinese hamster ovary cells in the presence of cyanide. Biochim Biophys Acta 1974; 373(2): 242-52.
14. Kartner N, Riordan JR, Ling V. Cell surface P-glycoprotein associated with multidrug resistance in mammalian cell lines. Science 1983; 221(4617): 1285-8.
15. Wu CP, Hsieh CH, Wu YS. The emergence of drug transporter-mediated multidrug resistance to cancer chemotherapy. Mol Pharm 2011; 8(6): 1996-2011.
16. Entezar-e-Ghaem M, Rahgozar S, Moafi AR. The role of ABC transporters in drug resistance in acute lymphoblastic leukemia. Proceedings of the The 6th Annual Congress of Iranian Blood and Pediatric Cancer Society; 2012 Feb 8-10; Ahwaz, Iran. p. 61.
17. Li S, Lei Y, Jia Y, Li N, Wink M, Ma Y. Piperine, a piperidine alkaloid from Piper nigrum re-sensitizes P-gp, MRP1 and BCRP dependent multidrug resistant cancer cells. Phytomedicine 2011; 19(1): 83-7.
18. Abedi M, Rahgozar S, Moafi AR, Moshtaghian K, Ghaedi A, Esmaeli M, et al. Evaluation of ABCB1/MDR1 expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. Proceedings of the 13th Iranian Pharmaceutical Sciences Congress; 2012 September 3-6; Isfahan, Iran.
19. Entezar-e-Ghaem M, Rahgozar S, Moafi AR, Moshtaghian J, Esmaeli A, Abedi M, et al.

Evaluation of ABCG2/BCRP expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. Iran J Pediatr Hematol Oncol 2012; 2(2 Suppl 1): 51.
20. Abedi M, Rahgozar S. Evaluation of LRP1 expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. Proceedings of the 17th National and 5th International Iranian Biology Conference; 2012 September 4-6; Kerman, Iran.
21. Entezare Ghaem M, Rahgozar S, Moafi A. Evaluation of ABCC3/MRP3 expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. Res Pharm Sci 2012; 7(5): s403.
22. Entezar-e-Ghaem M, Rahgozar S, Moafi AR. Evaluation of ABCA3 expression in childhood acute lymphoblastic leukemia Proceedings of the 17th National and 5th International Iranian Biology Conference; 2012 September 4-6; Kerman, Iran.
23. Mayer LD, Shabbits JA. The role for liposomal drug delivery in molecular and pharmacological strategies to overcome multidrug resistance. Cancer Metastasis Rev 2001; 20(1-2): 87-93.
24. Tsuruo T, Iida H, Tsukagoshi S, Sakurai Y. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. Cancer Res 1981; 41(5): 1967-72.
25. Thomas H, Coley HM. Overcoming multidrug resistance in cancer: an update on the clinical strategy of inhibiting p-glycoprotein. Cancer Control 2003; 10(2): 159-65.
26. Twentyman PR, Fox NE, White DJ. Cyclosporin A and its analogues as modifiers of adriamycin and vincristine resistance in a multi-drug resistant human lung cancer cell line. Br J Cancer 1987; 56(1): 55-7.
27. Robert J, Jarry C. Multidrug resistance reversal agents. J Med Chem 2003; 46(23): 4805-17.
28. Zhao H, Quan H, Xie C, Xu Y, Xie F, Hu Y, et al. YHHU0895, a novel synthetic small-molecule microtubule-destabilizing agent, effectively overcomes P-glycoprotein-mediated tumor multidrug resistance. Cancer Lett 2012; 314(1): 54-62.
29. Wang XB, Wang SS, Zhang QF, Liu M, Li HL, Liu Y, et al. Inhibition of tetramethylpyrazine on P-gp, MRP2, MRP3 and MRP5 in multidrug resistant human hepatocellular carcinoma cells. Oncol Rep 2010; 23(1): 211-5.
30. Chearwae W, Shukla S, Limtrakul P, Ambudkar SV. Modulation of the function of the multidrug resistance-linked ATP-binding cassette transporter ABCG2 by the cancer chemopreventive agent curcumin. Mol Cancer Ther 2006; 5(8): 1995-2006.
31. Kweon SH, Song JH, Kim TS. Resveratrol-mediated reversal of doxorubicin resistance in acute myeloid leukemia cells via downregulation of MRP1 expression. Biochem Biophys Res Commun 2010; 395(1): 104-10.
32. Li B, Xu H, Li Z, Yao M, Xie M, Shen H, et al. Bypassing multidrug resistance in human breast cancer cells with lipid/polymer particle assemblies. Int J Nanomedicine 2012; 7: 187-97.
33. van Vlerken LE, Duan Z, Seiden MV, Amiji MM. Modulation of intracellular ceramide using polymeric nanoparticles to overcome multidrug resistance in cancer. Cancer Res 2007; 67(10): 4843-50.
34. Zhang H, Jiang H, Wang H, Zhao J, Chen B, Wang X. Ultrasound mediated drug-loaded nanoparticles crossing cell membranes as a new strategy to reverse cancer multidrug resistance. J Nanosci Nanotechnol 2011; 11(3): 1834-40.
35. Shapira A, Livney YD, Broxterman HJ, Assaraf YG. Nanomedicine for targeted cancer therapy: towards the overcoming of drug resistance. Drug Resist Updat 2011; 14(3): 150-63.
36. Stevenson-Abouelnasr D, Husseini GA, Pitt WG. Further investigation of the mechanism of Doxorubicin release from P105 micelles using kinetic models. Colloids Surf B Biointerfaces 2007; 55(1): 59-66.
37. Kang KW, Chun MK, Kim O, Subedi RK, Ahn SG, Yoon JH, et al. Doxorubicin-loaded solid lipid nanoparticles to overcome multidrug resistance in cancer therapy. Nanomedicine 2010; 6(2): 210-3.
38. Song M, Zhang R, Dai Y, Gao F, Chi H, Lv G, et al. The in vitro inhibition of multidrug resistance by combined nanoparticulate titanium dioxide and UV irradition. Biomaterials 2006; 27(23): 4230-8.
39. Wong HL, Bendayan R, Rauth AM, Xue HY, Babakhanian K, Wu XY. A mechanistic study of enhanced doxorubicin uptake and retention in multidrug resistant breast cancer cells using a polymer-lipid hybrid nanoparticle system. J Pharmacol Exp Ther 2006; 317(3): 1372-81.
40. Xiao L, Xiong X, Sun X, Zhu Y, Yang H, Chen H, et al. Role of cellular uptake in the reversal of multidrug resistance by PEG-b-PLA polymeric micelles. Biomaterials 2011; 32(22): 5148-57.
41. Gu YJ, Cheng J, Man CW, Wong WT, Cheng SH. Gold-doxorubicin nanoconjugates for overcoming multidrug resistance. Nanomedicine 2012; 8(2): 204-11.
42. Kievit FM, Wang FY, Fang C, Mok H, Wang K, Silber JR, et al. Doxorubicin loaded iron oxide nanoparticles overcome multidrug resistance in cancer in vitro. J Control Release 2011; 152(1): 76-83.
43. Needham D, Anyarambhatla G, Kong G, Dewhirst MW. A new temperature-sensitive liposome for use with mild hyperthermia: characterization and testing in a human tumor

xenograft model. Cancer Res 2000; 60(5): 1197-201.
44. Shukla S, Wu CP, Ambudkar SV. Development of inhibitors of ATP-binding cassette drug transporters: present status and challenges. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2008; 4(2): 205-23.
45. Han M, Diao YY, Jiang HL, Ying XY, Chen DW, Liang WQ, et al. Molecular mechanism study of chemosensitization of doxorubicin-resistant human myelogenous leukemia cells induced by a composite polymer micelle. Int J Pharm 2011; 420(2): 404-11.
46. Wang Y, Yu L, Han L, Sha X, Fang X. Difunctional Pluronic copolymer micelles for paclitaxel delivery: synergistic effect of folate-mediated targeting and Pluronic-mediated overcoming multidrug resistance in tumor cell lines. Int J Pharm 2007; 337(1-2): 63-73.
47. Soma CE, Dubernet C, Bentolila D, Benita S, Couvreur P. Reversion of multidrug resistance by co-encapsulation of doxorubicin and cyclosporin A in polyalkylcyanoacrylate nanoparticles. Biomaterials 2000; 21(1): 1-7.
48. Song XR, Cai Z, Zheng Y, He G, Cui FY, Gong DQ, et al. Reversion of multidrug resistance by co-encapsulation of vincristine and verapamil in PLGA nanoparticles. Eur J Pharm Sci 2009; 37(3-4): 300-5.
49. Zhang P, Ling G, Sun J, Zhang T, Yuan Y, Sun Y, et al. Multifunctional nanoassemblies for vincristine sulfate delivery to overcome multidrug resistance by escaping P-glycoprotein mediated efflux. Biomaterials 2011; 32(23): 5524-33.
50. Gao Z, Fain HD, Rapoport N. Ultrasound-enhanced tumor targeting of polymeric micellar drug carriers. Mol Pharm 2004; 1(4): 317-30.
51. Conlin AK, Seidman AD, Bach A, Lake D, Dickler M, D'Andrea G, et al. Phase II trial of weekly nanoparticle albumin-bound paclitaxel with carboplatin and trastuzumab as first-line therapy for women with HER2-overexpressing metastatic breast cancer. Clin Breast Cancer 2010; 10(4): 281-7.
52. Stein U, Walther W, Stege A, Kaszubiak A, Fichtner I, Lage H. Complete in vivo reversal of the multidrug resistance phenotype by jet-injection of anti-MDR1 short hairpin RNA-encoding plasmid DNA. Mol Ther 2008; 16(1): 178-86.
53. Abbasi M, Lavasanifar A, Uluda H. Recent attempts at RNAi-mediated P-glycoprotein downregulation for reversal of multidrug resistance in cancer. Med Res Rev 2011.
54. Lv H, He Z, Liu X, Yuan J, Yu Y, Chen Z. Reversal of BCRP-mediated multidrug resistance by stable expression of small interfering RNAs. J Cell Biochem 2007; 102(1): 75-81.
55. Stege A, Priebsch A, Nieth C, Lage H. Stable and complete overcoming of MDR1/P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in human gastric carcinoma cells by RNA interference. Cancer Gene Ther 2004; 11(11): 699-706.
56. Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. Nature 2001; 411(6836): 494-8.
57. Kruhn A, Wang A, Fruehauf JH, Lage H. Delivery of short hairpin RNAs by transkingdom RNA interference modulates the classical ABCB1-mediated multidrug-resistant phenotype of cancer cells. Cell Cycle 2009; 8(20): 3349-54.
58. Nieth C, Priebsch A, Stege A, Lage H. Modulation of the classical multidrug resistance (MDR) phenotype by RNA interference (RNAi). FEBS Lett 2003; 545(2-3): 144-50.
59. Duan Z, Brakora KA, Seiden MV. Inhibition of ABCB1 (MDR1) and ABCB4 (MDR3) expression by small interfering RNA and reversal of paclitaxel resistance in human ovarian cancer cells. Mol Cancer Ther 2004; 3(7): 833-8.
60. Tian X, Zamek-Gliszczynski MJ, Zhang P, Brouwer KL. Modulation of multidrug resistance-associated protein 2 (Mrp2) and Mrp3 expression and function with small interfering RNA in sandwich-cultured rat hepatocytes. Mol Pharmacol 2004; 66(4): 1004-10.
61. Xia Z, Zhang L, Chen Q, Royal C, Yu Z, Liu Z, et al. Stable reversal of multidrug resistance in colon cancer cells by RNA interference targeting the MDR1 gene. Mol Med Report 2009; 2(4): 579-84.
62. Abbasi M, Lavasanifar A, Berthiaume LG, Weinfeld M, Uludag H. Cationic polymer-mediated small interfering RNA delivery for P-glycoprotein down-regulation in tumor cells. Cancer 2010; 116(23): 5544-54.
63. Wu Z, Li X, Zeng Y, Zhuang X, Shen H, Zhu H, et al. In vitro and in vivo inhibition of MRP gene expression and reversal of multidrug resistance by siRNA. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2011; 108(3): 177-84.
64. Patutina OA, Mironova NL, Popova NA, Kaledin VI, Nikolin VP, Vlassov VV, et al. The siRNA targeted to mdr1b and mdr1a mRNAs in vivo sensitizes murine lymphosarcoma to chemotherapy. BMC Cancer 2010; 10: 204.
65. Kaszubiak A, Holm PS, Lage H. Overcoming the classical multidrug resistance phenotype by adenoviral delivery of anti-MDR1 short hairpin RNAs and ribozymes. Int J Oncol 2007; 31(2): 419-30.
66. Brummelkamp TR, Bernards R, Agami R. A

system for stable expression of short interfering RNAs in mammalian cells. Science 2002; 296(5567): 550-3.
67. Ilves H, Barske C, Junker U, Bohnlein E, Veres G. Retroviral vectors designed for targeted expression of RNA polymerase III-driven transcripts: a comparative study. Gene 1996; 171(2): 203-8.
68. Pichler A, Zelcer N, Prior JL, Kuil AJ, Piwnica-Worms D. In vivo RNA interference-mediated ablation of MDR1 P-glycoprotein. Clin Cancer Res 2005; 11(12): 4487-94.
69. Matsui Y, Kobayashi N, Nishikawa M, Takakura Y. Sequence-specific suppression of mdr1a/1b expression in mice via RNA interference. Pharm Res 2005; 22(12): 2091-8.
70. Lage H, Kruhn A. Bacterial delivery of RNAi effectors: transkingdom RNAi. J Vis Exp 2010; (42).
71. Xiao H, Wu Z, Shen H, Luo AL, Yang YF, Li XB, et al. In vivo reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by efficient delivery of stealth RNAi. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2008; 103(4): 342-8.
72. Pawlak-Roblin C, Tosi PF, Perrin L, Devy J, Venteo L, Albert P, et al. Inhibition of multidrug resistance by immunisation with synthetic P-glycoprotein-derived peptides. Eur J Cancer 2004; 40(4): 606-13.
73. Morizono K, Xie Y, Ringpis GE, Johnson M, Nassanian H, Lee B, et al. Lentiviral vector retargeting to P-glycoprotein on metastatic melanoma through intravenous injection. Nat Med 2005; 11(3): 346-52.
74. Tsuruo T, Hamada H, Sato S, Heike Y. Inhibition of multidrug-resistant human tumor growth in athymic mice by anti-P-glycoprotein monoclonal antibodies. Jpn J Cancer Res 1989; 80(7): 627-31.
75. Nakanishi T, Shiozawa K, Hassel BA, Ross DD. Complex interaction of BCRP/ABCG2 and imatinib in BCR-ABL-expressing cells: BCRP-mediated resistance to imatinib is attenuated by imatinib-induced reduction of BCRP expression. Blood 2006; 108(2): 678-84.
76. Kang H, Fisher MH, Xu D, Miyamoto YJ, Marchand A, Van AA, et al. Inhibition of MDR1 gene expression by chimeric HNA antisense oligonucleotides. Nucleic Acids Res 2004; 32(14): 4411-9.
77. Zhu H, Wu H, Liu X, Evans BR, Medina DJ, Liu CG, et al. Role of MicroRNA miR-27a and miR-451 in the regulation of MDR1/P-glycoprotein expression in human cancer cells. Biochem Pharmacol 2008; 76(5): 582-8.
78. Kowalski P, Surowiak P, Lage H. Reversal of different drug-resistant phenotypes by an autocatalytic multitarget multiribozyme directed against the transcripts of the ABC transporters MDR1/P-gp, MRP2, and BCRP. Mol Ther 2005; 11(4): 508-22.
79. Holm PS, Scanlon KJ, Dietel M. Reversion of multidrug resistance in the P-glycoprotein-positive human pancreatic cell line (EPP85-181RDB) by introduction of a hammerhead ribozyme. Br J Cancer 1994; 70(2): 239-43.

Journal of Isfahan Medical School Review Article

Vol. 30, No. 213, 3rd week, January 2013 Received: 8.10.2012 Accepted: 5.12.2012

The Methods to Overcome ATP-binding Cassette Transporters-mediated Multi-drug Resistance

Mansoureh Entezar-e-Ghaem[1], Soheila Rahgozar PhD[2], Ali Reza Moafi MD[3]

Abstract

Background: Multi-drug resistance (MDR) is a prevalent phenomenon occurred in tumor cells in response to chemotherapy. The main cause of MDR is the efflux of drugs by ATP-binding Cassette (ABC) transporters. Since identifying the role of these proteins in resistance to chemotherapeutic agents, extensive researches have been started to find out methods to selectively overcome their effects. The purpose of this study was to review the methods used to conquer ABC transporters-mediated MDR.

Methods: Reviewing more than 70 basic and recently published articles, this paper is discussing the methods of defeating MDR.

Findings: The first step to counteract the ABC transporters effects is using chemical inhibitors. Unpredictable cytotoxicity and side effects of these modulators may require more attentiveness in their clinical application. Another technique in this regard is the use of drug delivery systems such as nanoparticles and liposomes. This method can be employed along with sonication to improve the specificity. Down-regulation of ABC transporters expression by means of RNA interference system is another method to overcome MDR. siRNA and shRNA are utilized in this system and are introduced into the cells by various carriers such as viral vectors, lipid carriers and chemical polymers. Destruction of mRNA is the aim of this method.

Conclusion: Despite great advances in overcoming ABC transporters-mediated MDR, most of the techniques are in preclinical and early stages of clinical trials and await more delineation for becoming clinically applicable. Two main reasons for this slow progress are wide range of substrate specificity as well as the tissue distribution of ABC transporters.

Keywords: Multiple drug resistance, ATP-binding cassette transporters, Membrane transport modulators, Drug delivery systems, RNA interference

[1] MSc Student, Department of Biology, School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Biology, School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran
[3] Associate Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine AND Child Growth and Development Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Soheila Rahgozar PhD, Email: rahgozar@sci.ui.ac.ir