

Rezisztenciamódosítók összehasonlítása multidrog-rezisztens prosztatata-, egérlymphoma- és vastagbélrák-sejtvonalakon

Csonka Ákos dr.

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet, Szeged

Bevezetés: A kemoterápia sikertelenségének oka a tumorsejtek multidrog-rezisztenciájához köthető. Ezek közül az egyik legismertebb a membránban lokalizálódó efflux pumpák fokozott expressziója, például a P-glikoprotein jelenléte. **Célkitűzés:** A szerző a szubsztituált szteroid- és fenotiazinvegyületek antitumorhatását elemezte egér- és humán tumormodellekben *in vitro*. **Módszer:** A P-glikoprotein gátlását és az apoptózisindukciót áramlási citometriával jellemezte, illetve elemezte a doxorubicin és a vizsgált vegyületek közötti kölcsönhatást. A szteroidok és a P-glikoprotein közötti szerkezet-hatás összefüggést molekuláris docking vizsgálattal jellemezte. **Eredmények:** Az aminoacil-amid szubsztituensek jelenléte a szteroidvázon jelentős rákellenes hatást mutatott multidrog-rezisztens egérlymphoma- és prosztatataráksejteken. A szteroidszármazékok többsége doxorubicinnel kombinálva potenciálja annak hatását hormonrezisztens humán prosztatatarák-sejtvonalon. Az *N*-hidroxi-alkil-2-aminofenotiazin-származékok közül a másodlagos aminoknak volt tumorelles hatása multidrog-rezisztens colonadenocarcinoma-sejteken. **Következtetések:** A vizsgált fenotiazinok és szubsztituált szteroidok antitumor-hatásúak, továbbá thioridazin esetében a sztereoizomériának nem volt szerepe a tumorsejtek gátlásában. Sem a szteroid, sem a thioridazin vegyületek nem mutattak apoptózist indukáló hatást hormonrezisztens humán prosztatatarák-sejtvonalon. *Orv. Hetil.*, 2016, 157(37), 1489–1495.

Kulcsszavak: szubsztituált szteroidok, fenotiazinok, multidrog-rezisztencia, ABCB1-transzporter, tumorsejtvonalak

Comparison of the effect of multidrug resistance modifiers on prostate cancer, mouse lymphoma and colon cancer cells

Introduction: The reason for unsuccessful tumor chemotherapy is related to multidrug resistance. An important factor is the overexpression of efflux pumps, such as P-glycoprotein. **Aim:** Amino- and amide-substituted steroid compounds and phenothiazine derivatives were investigated in tumor models *in vitro*. **Method:** The inhibition of P-glycoprotein was evaluated by flow cytometry and the interaction of these compounds with doxorubicin was investigated as well. Molecular docking was used to estimate the binding energies of the compounds to P-glycoprotein. **Results:** The aminosteroids showed anticancer activity on multidrug resistant mouse T-lymphoma and prostate cancer cell lines. The combination of steroids and doxorubicin potentiated its effect in hormone resistant prostate cancer cells. Among the *N*-hydroxyalkyl-2-aminophenothiazines, secondary amines exhibited anticancer effects on multidrug resistant colon adenocarcinoma cells. **Conclusions:** The tested phenothiazine and steroid derivatives showed potent anticancer activity, furthermore, the stereoisomerism of thioridazine did not play a role in the antitumor properties. Neither steroids nor thioridazine influenced apoptosis in hormone resistant cells.

Keywords: substituted steroids, phenothiazines, multidrug resistance, ABCB1 transporter, cancer cell lines

Csonka, Á. [Comparison of the effect of multidrug resistance modifiers on prostate cancer, mouse lymphoma and colon cancer cells]. *Orv. Hetil.*, 2016, 157(37), 1489–1495.

(Beérkezett: 2016. június 2.; elfogadva: 2016. június 30.)

Rövidítések

ABC-transzporter = (ATP-binding cassette transporter) ATP-kötő kazettát tartalmazó transzporter; ATP = adenzin-trifoszfát; BOC = *N-terc*-butiloxikarbonil; EU = Európai Unió; FITC = annexin V-fluorescein izotiocianát; IC₅₀ = 50%-os gátlási koncentráció; MDR = multidrog-rezisztencia (több gyógyszerrel szemben kialakult rezisztencia); MTT = 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-bromid; PAR = L5178 egér-T-lymphoma szülői sejtvonala; P-gp = P-glikoprotein; R123 = rhodamin-123

A szív- és érrendszeri kórképek után a tumoros megbetegedések képezik a második leggyakoribb halálokat világszerte. A daganatok kialakulását a kontroll nélküli sejtproliferáció és a sejthalál hiánya jellemzi, amely abnormális sejtnövekedés, tumor kialakulásához vezet. A lokalizált tumorok elsődleges kezelési módja a műtét és a radioterápia, míg a metasztázist adók esetében a kemoterápia az elsődleges választás. A kemoterápia sikertelenségének oka a tumorsejtekben lévő multidrog-rezisztencia (MDR) mechanizmusában rejlik. Ezek közül az egyik legismertebb a membránban lokalizálódó különböző efflux pumpák fokozott expressziója. A tumorsejtekben ezek a transzporterfehérjék többféle, nem rokon szerkezetű rákellenes szert távolítanak el az intracelluláris térből, a flexibilis szubsztrátkötő helyüknek köszönhetően. Korunk egyik égető problémája olyan új, hatékony vegyületek kifejlesztése, amelyekkel képesek leszünk leküzdeni a tumorsejtek rezisztenciamechanizmusait.

A prosztatatarák, a lymphoproliferatív kórképek, illetve a vastag- és végbélrák morbiditási és mortalitási adatai

A prosztatatarák kialakulása összetett mechanizmus, a fő okok között szerepel a jelátviteli kaszkádok hibája, illetve a szerzett rezisztencia, amely következtében a programozott sejthalál elmarad. A várható élettartam növekedésével a prosztatatarák előfordulása nő, és a rendelkezésre álló jobb diagnosztikai módszerek miatt korábban kerül felismerésre. Az EU-ban a prosztatatarák a leggyakoribb rosszindulatú betegség a középkorú férfiak körében. Az előregedő társadalomban a férfi lakosság halálozási aránya a prosztatatarák miatt aránytalanul növekszik, és ennek az aggasztó tendenciának a magyarázata eddig még ismeretlen [1].

A lymphoproliferatív kórképek morbiditása és mortalitása is jelentős. Évente mintegy 450 000 új beteget és 225 000 halálesetet jelentenek világszerte. Ezek a betegségek meglehetősen heterogének, így pontos diagnosztikájukhoz a klinikai jellemzőkön és a klasszikus szövettani morfológián túl, az immunológiai fenotípus meghatározása, a citogenetikai és a molekuláris sajátosságok átfogó értékelése elengedhetetlen. Mindazonáltal az utóbbi időben korszerű és rendkívül pontos molekuláris bioló-

giai technikákat fejlesztettek ki, amelyek elérhetővé váltak a laboratóriumi diagnosztika számára is. Többek között ezen módszerek közé tartoznak a microarray technikák és az új generációs szekvenálási eljárások, amelyek elősegítik a lymphomák heterogenitásának megértését, és elősegíthetik a bizonyos lymphomaaltípusok megismerését [2, 3].

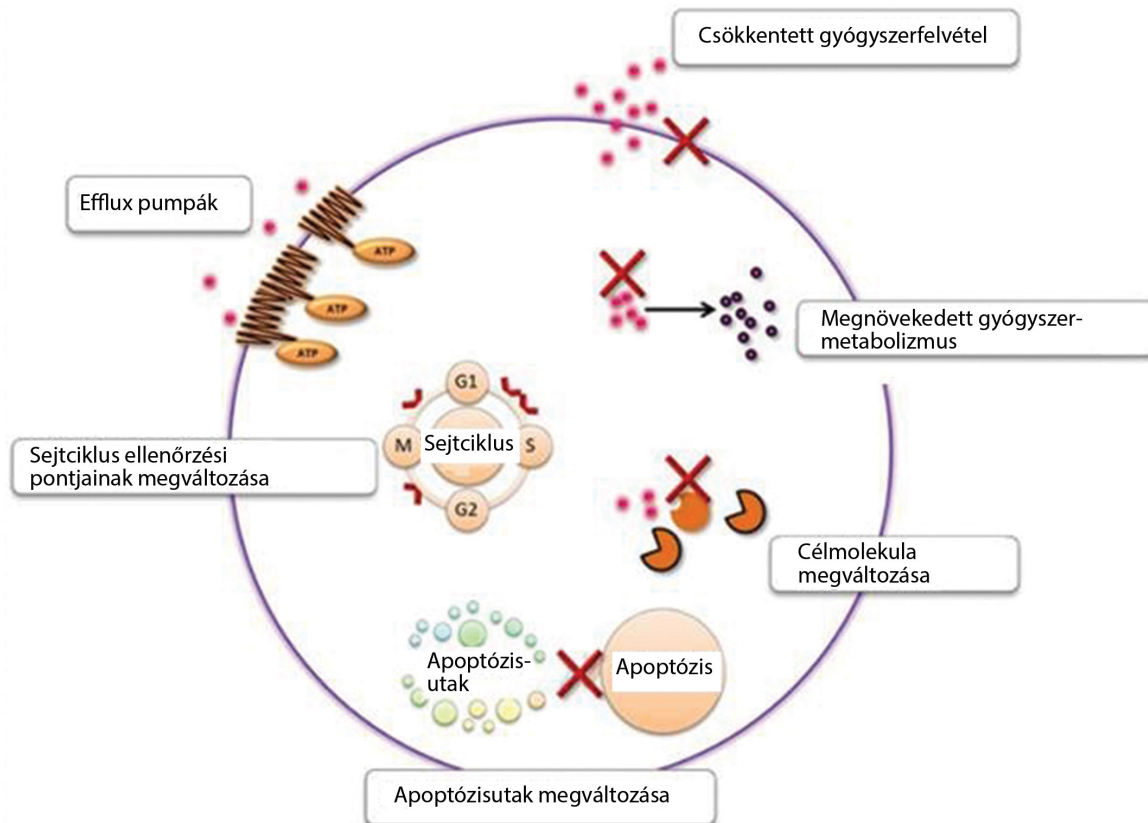
A vastag- és végbélrák a harmadik leggyakoribb daganat, és a negyedik leggyakoribb halálokat világszerte, ez megközelítőleg 1,2 millió új beteget és 600 000 halálesetet jelent évente. Előfordulása 50 éves kor alatt alacsony, de az életkor növekedésével incidenciája jelentősen emelkedik. A fejlett országokban a diagnózis felállításakor az átlagéletkor körülbelül 70 év. A legnagyobb számú előfordulást Európából, Észak-Amerikából és Óceániából jelentették [4].

A gyógyszer-rezisztencia jelentősége

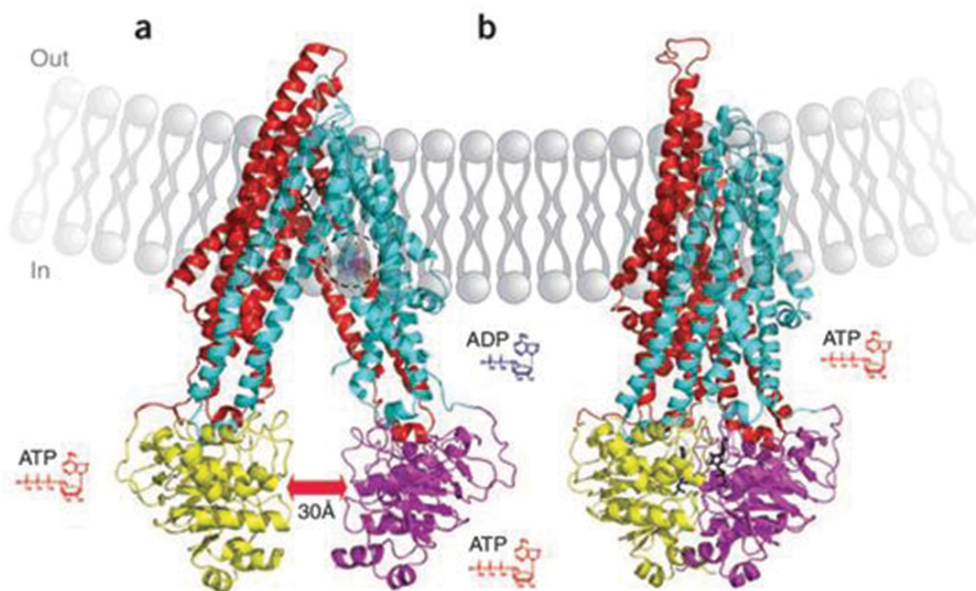
A gyógyszer-rezisztencia kialakulása egy kiválasztódási folyamat, amely során a heterogén tumormasszából a domináns klónok szelektálódnak. A legtöbb kemoterápiás szerre létrejövő rezisztencia a gyógyszerrel történő ismételt kezelésekkel is előidézhető. A gyógyszer-rezisztencia fő mechanizmusai: intracelluláris gyógyszerkoncentráció csökkentése transzportfehérjék által, a kemoterápiás szer és a célmolekula kölcsönhatásának megváltozása, a celluláris javítómechanizmusok módosulása és az apoptózist szabályozó gének működésében bekövetkező változások (1. ábra) [5].

Az efflux pumpákhoz kapcsolódó rezisztencia tumorsejtekben

A transzportmechanizmusok közül az egyik legismertebb a membránban lokalizálódó különböző típusú efflux pumpák fokozott kifejeződése. Az efflux pumpáknak fontos szerep jut a sejtek normális életműködéseiben: tápanyagfelvétel, mérgező metabolitok és különböző anyagok kiválasztása, sejthomeosztázis fenntartása [6]. Ilyen efflux pumpák az ATP-kötő kazettát tartalmazó ABC-transzporterek, amelyek az egyik legnagyobb és legősibb fehérje-szupercsalád. Napjainkig több mint 200 olyan fehérjét azonosítottak, amelyek az ABC fehérje-szupercsalád tagjai és a multidrog-rezisztenciában (MDR) is szerepet játszanak. Az ABC-transzporterek transzmembrán glikoproteinek, amelyek elősegítik a szerkezetileg nem rokon vegyületek egyirányú transzlokációját a sejtmembránon keresztül, kihasználva az adenzin-trifoszfát (ATP) hidrolíziséből származó energiát [7] (2. ábra). Az ABC-transzportereket konzervált szerkezet és hatásmechanizmus jellemzi, amely a prokaryotákból megőrződött az eukaryotákban is. Az MDR-ABC fehérjék eliminálják a különböző anyagokat a sejtekből, beleértve mind az endo-, mind a xenobiotikumokat. Az MDR daganatsejtekben gyakran fellelhető az *ABCBI*-



1. ábra | A tumorsejtek drogrezisztenciájának fő mechanizmusai [5]



2. ábra | ABCB1-transzporter sematikus szerkezete nyitott és zárt állapotban [7]

gén fokozott expressziója, amely a membránban lokalizált ABC-transzporter B1 fehérjét (ABCB1; P-glikoprotein) kódolja. Az ABCB1 efflux pumpát a nagy transzportkapacitás és széles szubsztárspecifitás jellemzi. Az általa transzportált molekulák általában hidrofób, amfipatikus, töltetlen vagy bázikus vegyületek, de

esetenként negatív töltésűeket is képes eliminálni az intracelluláris térből. Megállapítható, hogy az ABCB1 képes kölcsönhatásba lépni több mint 200 vegyülettel. Az ABCB1 pumpa szubsztáratai és modulátorai különböző kémiai szerkezetű csoportokba oszthatók. A legelterjedtebb megoldás, amely megváltoztatja az ABCB1

működését, a különböző inhibitorok használata. Napjainkig az ABCB1 inhibitorok három generációját azonosították, amelyek lehetnek kompetitív és nem kompetitív inhibitorok. Ahogy az elnevezésük is szemlélteti, a kompetitív inhibitorok versenyeznek a citotoxikus szerek kötőhelyéért. Ha kapcsolódásuk sikeres az ABCB1 efflux pumpához, a citotoxikus szer bejuthat a membránon keresztül az intracelluláris térbe. A nem kompetitív inhibitorok egy másik kötőhelyhez kapcsolódnak a fehérjemolekulán belül, így annak konformációja megváltozik, és ennek eredményeként a kemoterápiás szer képessé válik a sejtbe történő bejutásra [8–10]. Ennek érdekében, hogy növeljük a már ismert kemoterápiás szerek hatékonyságát, amelyekre a tumorsejtek már rezisztenssé váltak, az efflux pumpák működésére ható új vegyületek kifejlesztése lehet az egyik lehetőség.

Célkitűzések

Vizsgálataink elsődleges célja új perspektívák feltárása volt a kemoterápia során kialakuló multidrog-rezisztencia leküzdésére. Kísérleteink során szubsztituált szteroidok [11–13] és különböző fenotiazinszármazékok (3. ábra) között kerestünk nem toxikus, de hatékony vegyületeket az MDR gátlására [14, 15]. A vizsgált vegyületek MDR-gátló hatását már ismert kemoterapeutikumokkal kombinálva elemeztük különböző sejtvonalakon *in vitro*. Az apoptózist indukáló hatást és a tumorprogresszió gátlását egér-T-lymphoma- és a prosztatarák-sejtvonalakon vizsgáltuk. A vegyületek antiproliferatív hatását 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenilbromid (MTT) módszerrel vizsgáltuk L5178 egér-T-lymphoma szülői sejtvonalon (PAR), és humán ABCB1-génnel transzfektált vonalán (MDR, L5178Y), LNCaP és PC3 prosztatarák-sejtvonalakon, valamint a multidrog-rezisztens Colo 320 vastagbéladenocarcinoma-sejtvonalon. A vegyületek citotoxikus hatását MTT-módszerrel vizsgáltuk PAR és MDR egér-T-lymphoma-sejtvonalakon. Kísérleteink során a szubsztituált szteroid- és thioridazinvegyületek ABCB1-moduláló hatását intracelluláris rhodamin-123- (R123) akkumulációval vizsgáltuk, áramlási citometria segítségével MDR

egér-T-lymphoma-sejtvonalon. Az ismert kemoterapeutikumok és a vizsgált szteroid- és *N*-hidroxi-alkil-2-aminofenotiazin-vegyületek kölcsönhatását 96 lyukas mikrotitráló lemezen vizsgáltuk PC3 és MDR Colo 320 sejtvonalakon. Az amino- és amidocsoportokkal szubsztituált szteroid- és a thioridazinvegyületek apoptózist indukáló hatását annexin V-fluoreszcein izotiocianát (FITC) módszerrel vizsgáltuk áramlási citometria segítségével, MDR egér-T-lymphoma- és PC3 prosztatarák-sejtvonalakon. A vegyületek szerkezetével összefüggő hatásokat a biológiai kísérletek alapján elemeztük molekuláris docking módszerrel. A mindennapi orvosi gyakorlatban különösen nagy figyelem fordul a gyógyszerek sztereoizomériai szerkezetéhez köthető biológiai hatások felé. Ennek szerepét vizsgáltuk a tumorelles hatások tekintetében thioridazinvegyületek esetében.

Eredmények

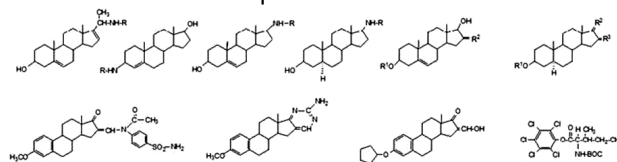
Antiproliferatív hatás vizsgálata

A szubsztituált szteroidvegyületek közül az aminoacilamidok és egy ösztron-éter származék mutattak jelentős antiproliferatív aktivitást ABCB1-et expresszáló MDR egér-T-lymphoma-sejtvonalon. Az aminoacilamidok három különböző szteroidvázhoz (androsztán, androsztén és pregnándién) kapcsolódnak, míg az ösztron-éter származék egy kétagú α -hidroxi-metilén-keton elrendezést tartalmaz a D-gyűrűn, amely lehetővé teszi az 1,4-hidrogén donor-akceptor kapcsolatot. Másrészt a fent említett vegyületek hatékonynak bizonyultak az antiproliferatív vizsgálatokban hormonszenzitív LNCaP prosztatarák-sejtvonalon is.

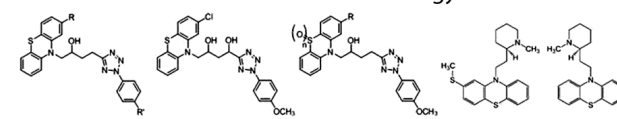
A vizsgált *N*-hidroxi-alkil-2-aminofenotiazinok ígéretes antiproliferatív hatásúak az MDR vastagbéladenocarcinoma-sejtekben. Természetesen a szubsztituens csoportok markánsan befolyásolták a rákellenes aktivitást. A vegyületek szerkezete és aktivitása közötti kapcsolat elemzése során arra a következtetésre jutottunk, hogy a szekunder aminokkal szubsztituáltak (morfolin, dietilamin vagy *N*-metilpiperazin) az *N*-hidroxi-alkil-2-aminofenotiazin gyűrű 2-es pozíciójában voltak a leginkább hatékonyak. Továbbá, az IC₅₀-értékek alapján elmondható, hogy a kénatom oxidációs állapota (szulfoxid vagy szulfon) jelentős szerepet játszott az adott vegyület hatékonyságát illetően. Azok a vegyületek, amelyek a gyűrű 2-es pozíciójában primer amin vagy savamidot tartalmaznak, kevésbé hatékonyak, mint a fent említett származékok. Az antiproliferatív vizsgálatok egyértelműen bizonyítják, hogy a kén oxidációja vezetett a legaktívabb molekulák létrejöttéhez. Azt is megállapíthatjuk, hogy ez a szerkezeti változtatás egyértelműen növelte a biológiai aktivitást.

A racém thioridazin és a (+) és (–) enantiomerjei között nem észleltünk szignifikáns különbséget az antiproliferatív aktivitás tekintetében MDR egér-T-lymphoma- és PC3 prosztatarák-sejtvonalakon.

Amino- és amidocsoportokkal szubsztituált szteroidok



N-hidroxi-alkil-2-aminofenotiazin vegyületek



3. ábra | A vizsgált vegyületecsoportok alapvázai

Citotoxicitás vizsgálata

A szubsztituált szteroidszármazékok enyhe citotoxikus hatással rendelkeztek. Nem volt szignifikáns különbség a szülői és az MDR egér-T-lymphoma-sejtvonalon mutatott hatás között.

Rhodamin-123-akkumuláció vizsgálata

egér-T-lymphoma-sejtvonalon:

ABCB1-gátlás vizsgálata

A szubsztituált szteroidszármazékok hatását MDR-sejteken R123 intracelluláris akkumulációjának elemzésével vizsgáltuk, rövid inkubációs periódust és alacsony koncentrációt alkalmazva. Ebben a kísérletben 2×10^6 sejtet használtunk fel, a vizsgált vegyületeket $2 \mu\text{g/ml}$ koncentrációban adtuk a mintákhoz, majd 10 perc inkubáció után R123-at adtunk a sejtekhez. Az aminoszteroidvegyületek, amelyek BOC aminosavakkal acilezettek, és az egyszerű *N*-acetil-származékok kifejezett aktivitást mutattak az MDR egér-T-lymphoma-sejtvonalon. A szabad aminocsoportokat tartalmazó szteroidok vagy aminohidroklorid-szubsztituensek bizonyítottan gyengébb vagy semmilyen aktivitást nem mutattak az ABCB1 gátlását tekintve.

A racém és a (+) és (-) thioridazin enantiomerek R123 intracelluláris akkumulációját MDR egér-T-lymphoma-sejtvonalon határoztuk meg. A thioridazin és enantiomerjei mérsékelten gátolták az ABCB1 aktivitását anélkül, hogy a sztereospecifitásuknak szerepe lett volna a hatást illetően.

A rezisztenciamódosítók és az ismert kemoterápiás szerek kombinációs vizsgálatának eredményei

A szubsztituált szteroidvegyületek és a doxorubicin kombinációs vizsgálatokban mutatott aktivitása a hatástalantól az erős szinergizmusig változott. Nagyszámú szteroidszármazék fokozta a doxorubicin aktivitását PC3 sejtvonalon kombinációs kísérletekben. Az R123-vizsgálatban effektív *N*-hidroxi-alkil-2-aminofenotiazin-származékokat tanulmányoztuk kombinációs kísérletekben doxorubicinnel. Mindegyikük szinergista aktivitást mutatott doxorubicinnel a Colo 320 sejtvonalon. Az *N*-hidroxi-alkil-2-aminofenotiazin-származékok és a doxorubicin aránya ezekben a vizsgálatokban 12:1 volt. Feltételezhető, hogy a hasonló szerkezeti elemek (szekunder amin a gyűrű 2-es pozíciójában, 2-hidroxicsoport az alkiláncban, szulfoxid vagy szulfon forma) felelős a vegyületek doxorubicinnel együtt tanúsított szinergizmusáért.

A szubsztituált

szteroid- és a thioridazinvegyületek apoptózist indukáló hatása

A szubsztituált szteroidvegyületek apoptózist indukáló hatását PC3 prosztatarák-sejtvonalon vizsgáltuk, nem toxikus koncentrációt alkalmazva. A vegyületeknek nem volt releváns apoptózist indukáló aktivitása; a korai apoptózis 1–6%, a késői apoptózis és nekrozis 1–5% és a sejtpusztulás 1% körüli volt. Nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a kezeletlen kontrollal történő összehasonlítás során.

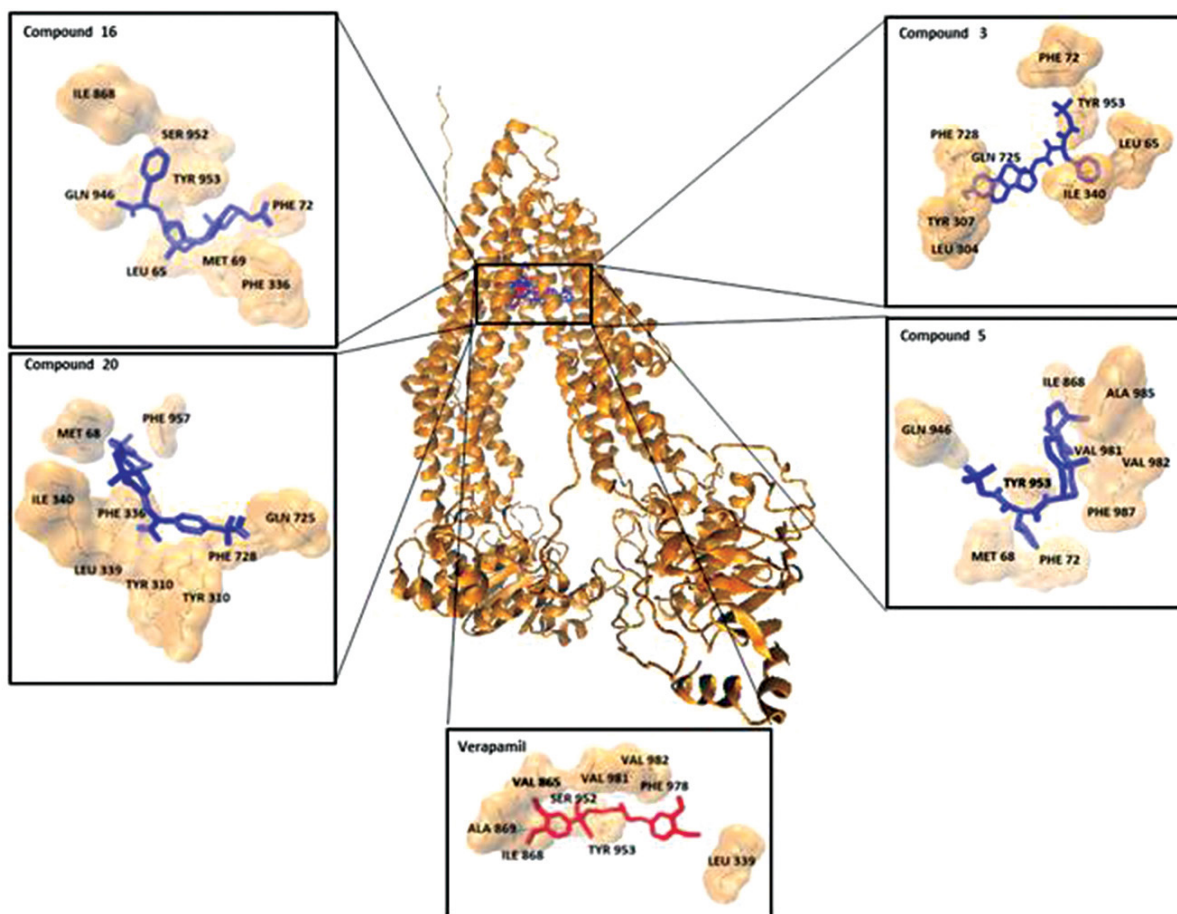
A thioridazin racém, (+) és (-) enantiomerek apoptózist indukáló hatását elemeztük MDR egér-T-lymphoma-sejtkultúrán. A thioridazin racém és (+) vagy (-) enantiomerjei között nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést az apoptózist indukáló hatásban, ami arra enged következtetni, hogy a sztereoszelektivitás nem játszik szerepet az apoptózist indukáló hatásukban. Mind a racém thioridazin, mind az enantiomerjei korai apoptózist indukáltak PC3 sejtekben, de nem volt szignifikáns különbség a hatások között. Eredményeink egyértelműen bizonyították, hogy a racém thioridazin és enantiomerjei lényegében azonos aktivitást produkálnak a replikáció és az apoptózisindukció tekintetében a különböző sejtvonalon.

Molekuláris docking

A molekuláris docking egy hatékony módszer, amely képes a kötési energia kiszámítására egy adott vegyület és egy fehérje között. A számítások alapján kimutatható az ideális fehérjekapcsolódási konfiguráció. Az algoritmus alapján előrejelezhető, hogy melyik aminosav vesz részt a hidrofób és a hidrogénkötések létrehozásában. A molekuláris docking eredmények azt mutatták, hogy a tesztelt vegyületek gátolják az ABCB1 fehérje aktivitását, és azonos helyen kötődnek a fehérjéhez, mint a verapamil. A szubsztituált szteroidvegyületek és a P-glikoprotein (P-gp) közötti kölcsönhatást *in silico* vizsgálatokkal modelleztük, ahol a verapamilt mint pozitív kontrollt használtuk. Mindegyik szubsztituált szteroidvegyület alacsonyabb kötési energiával rendelkezett, mint a verapamil. A kötési energiák $-6,43$ és $-9,88$ kcal/ml értékek között változtak. A gátlási állandók $0,1$ – $10,1 \mu\text{M}$ közötti értékek voltak.

Megbeszélés

Az aminoacilamidókkal szubsztituált szteroidok hatékony sejtosztódást gátló aktivitást produkálnak az MDR egér-T-lymphoma- és LNCaP prosztatarák-sejtvonalakon, míg a primer aminocsoportot tartalmazó szteroidoknak nem volt hatásuk a prosztatarák-sejtvonalakon [16]. Nem találtunk szignifikáns különbséget a racém és



4. ábra | A molekuláris docking vizsgálatokban leghatékonyabb vegyületek és a kontroll verapamil kötődési helye

a (+) és (-) thioridazin enantiomerek antiproliferatív aktivitása között MDR egér-T-lymphoma-sejtvonalon. Eredményeink alapján úgy tűnik, az egy enantiomer önálló használata nem nyújt semmilyen előnyt az MDR-tumorerellenes terápiában [17]. Az *N*-hidroxi-alkil-2-aminofenotiazinok esetében a gyűrű 2-es pozíciójában lévő szekunder aminoknak, illetve a kétatomos oxidációs állapotának (szulfoxid vagy szulfon) van szerepe a vegyületek antiproliferatív hatásait illetően MDR vastagbél-adenocarcinoma-sejtkultúrán. Nagyszámú szubsztituált szteroidvegyület fokozta a doxorubicin aktivitását kombinációs kísérletekben, PC3 prosztatarák-sejtvonalon. Az *N*-hidroxi-alkil-2-aminofenotiazinok esetében a doxorubicinnel való szinergizmust a gyűrű 2-es pozíciójában lévő szekunder aminok, a 2-hidroxi-csoport az alkil-láncban, és a szulfoxid- vagy szulfoncsoport biztosítja [18]. Sem a szubsztituált szteroidok, sem a thioridazin-származékok nem tudtak apoptózist indukálni PC3 prosztatarák vagy MDR egér-T-lymphoma-sejtvonalon [17, 19]. A molekuláris docking módszer segítségével meghatározható a kötési energia egy adott vegyület és egy fehérje között. A vizsgált szteroidvegyületek gátolták az ABCB1-aktivitást, és kötődési helyük megegyezett a verapamil kötődési helyével (4. ábra).

Anyagi támogatás: A közlemény megírása a Szegedi Rákkutatásért Alapítvány anyagi támogatásában részesült.

A szerző a cikk végleges változatát elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőnek nincsenek érdekltségei.

Irodalom

- [1] Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., Lortet-Tieulent, J., et al.: Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. *Eur. J. Cancer*, 2013, 49(6), 1374–1403.
- [2] Song, J. Y., Yu, J., Chan, W. C.: Gene expression profiling in non-Hodgkin lymphomas. *Cancer Treat. Res.*, 2015, 165, 97–123.
- [3] Soldini, D., Campo, E.: New insights into the diagnosis of lymphomas. *Ann. Oncol.*, 2012, 23(Suppl. 10), 83–88.
- [4] Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., et al.: Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer*, 2015, 136(5), E359–E386.
- [5] Chai, S., To, K. K., Lin, G.: Circumvention of multi-drug resistance of cancer cells by Chinese herbal medicines. *Chin. Med.*, 2010, 5, 26.
- [6] Trimble, W. S., Grinstein, S.: Barriers to the free diffusion of proteins and lipids in the plasma membrane. *J. Cell Biol.*, 2015, 208(3), 259–271.

- [7] *Gottesman, M. M., Ambudkar, S. V., Xia, D.*: Structure of a multidrug transporter. *Nat. Biotechnol.*, 2009, 27(6), 546–547.
- [8] *Ling, V., Thompson, L. H.*: Reduced permeability in CHO cells as a mechanism of resistance to colchicine. *J. Cell Physiol.*, 1974, 83(1), 103–116.
- [9] *Malicpaard, M., van Gastelen, M. A., de Jong, L. A., et al.*: Overexpression of the BCRP/MXR/ABCP gene in a topotecan-selected ovarian tumor cell line. *Cancer Res.*, 1999, 59(18), 4559–4563.
- [10] *Davidson, A. L., Dasa, E., Orelle, C., et al.*: Structure, function, and evolution of bacterial ATP-binding cassette systems. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2008, 72(2), 317–364.
- [11] *Szendi, Z., Dombi, G., Vincze, I.*: Steroids, LIII: New routes to aminosteroids. *Monatshefte für Chemie*, 1996, 127(11), 1189–1196.
- [12] *Vincze, I., Hackler, L., Szendi, Z., et al.*: Steroids 54. Amino acylamidosteroids. *Steroids*, 1996, 61(12), 697–702.
- [13] *Vincze, I., Somlai, Cs., Schneider, Gy., et al.*: Steroids, XLV. Neighbouring group participation, XII. Decomposition of (*Z*)-16-amidomethylene-17 β -hydroxysteroids mediated by neighbouring group participation. *Liebigs Ann. Chem.*, 1992, 3, 187–192.
- [14] *Spengler, G., Takács, D., Horváth, A., et al.*: Multidrug resistance reversing activity of newly developed phenothiazines on P-glycoprotein (ABCB1)-related resistance of mouse T-lymphoma cells. *Anticancer Res.*, 2014, 34(4), 1737–1741.
- [15] *Takács, D., Egyed, O., Drabos, L., et al.*: Synthesis and pharmacological investigation of new *N*-hydroxyalkyl-2-aminophenothiazines exhibiting marked MDR inhibitory effect. *Bioorg. Med. Chem.*, 2013, 21(13), 3760–3779.
- [16] *Csonka, Á., Hamdoun, S., Spengler, G., et al.*: Substituted steroidal compounds containing amino and amido groups reverse multidrug resistance of mouse T-lymphoma and two human prostate cancer cell lines in vitro. *Anticancer Res.*, 2015, 35(4), 2105–2112.
- [17] *Csonka, Á., Spengler, G., Martins, A., et al.*: Effect of thioridazine stereoisomers on the drug accumulation of mouse lymphoma and human prostate cancer cell lines in vitro. *In Vivo*, 2013, 27(6), 815–820.
- [18] *Takács, D., Csonka, Á., Horváth, Á., et al.*: Reversal of ABCB1-related multidrug resistance of colonic adenocarcinoma cells by phenothiazines. *Anticancer Res.*, 2015, 35(6), 3245–3251.
- [19] *Spengler, G., Molnar, J., Viveiros, M., et al.*: Thioridazine induces apoptosis of multidrug-resistant mouse lymphoma cells transfected with the human ABCB1 and inhibits the expression of P-glycoprotein. *Anticancer Res.*, 2011, 31(12), 4201–4205.

(Csonka Ákos dr.,
Szeged, Semmelweis u. 6., 6725
e-mail: csonka.akos81@gmail.com)

világraszóló tudás

12.99 EUR

AKADÉMIAI SZABÁLYZAT

iOS

2890 Ft

MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA

A magyar helyesírás szabályai

TIZENKETTEDIK KIADÁS

ÚJ MAGYAR HELYESÍRÁS

AKADÉMIAI KIADÓ

MAGYAR net-szótár

1 évre: 990 Ft
2 évre: 1780 Ft

2950 Ft

AKADÉMIAI SZABÁLYZAT

Windows

2490 Ft

AKADÉMIAI SZABÁLYZAT

Android

Szótár.net

A magyar helyesírás szabályai 12. kiadás

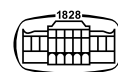
Mindig a keze ügyében!

- a Magyar Tudományos Akadémia szabályzata
- 300 szabálypont példákkal
- szabályzat és szótár egyben
- a 11. és a 12. kiadás közti különbségek felsorolása, példákkal
- tárgymutató

Keresse a könyvet a www.akademiai.hu oldalon, vagy válassza az online változatot és a mobilalkalmazást a www.szotar.net-en!



Szótár.net



AKADÉMIAI KIADÓ