

Univerzita Karlova  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Katedra farmakologie a toxikologie

## **Role membránových transportérů ve farmakokinetice a mnohočetné lékové rezistenci**

Habilitační práce  
(soubor vědeckých prací doplněný komentářem)

Hradec Králové 2017

PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.



## Poděkování

Ráda bych vyjádřila svůj dík všem, kdo se na této práci podíleli – experimentálně, formou podnětných diskuzí a cenných rad či „jen“ vytvořením podmínek pro to, aby mohla vzniknout.

Děkuji všem spoluautorům předkládaných publikací za pomoc při řešení jednotlivých výzkumných úkolů, získávání experimentálních dat a jejich publikaci. Předně bych ráda upřímně poděkovala Prof. PharmDr. Františku Štaudovi, Ph.D., za všechnu důvěru a dlouholetou podporu i motivaci. Velký dík patří i mým kolegům PharmDr. Lukáši Červenému, Ph.D. a RNDr. Jakubovi Hofmanovi, Ph.D., za ve všech ohledech příjemnou odbornou spolupráci. Děkuji též všem současným i minulým doktorandům za ochotu a nadšení při realizaci vědeckých nápadů a všem ostatním kolegům Katedry farmakologie a toxikologie za vytvoření velmi milého pracovního prostředí.

Dále bych ráda poděkovala kolegům doc. PharmDr. Radimovi Kučerovi, Ph.D. a doc. PharmDr. Hance Sklenářové, Ph.D., z Katedry farmaceutické chemie a kontroly léčiv a Katedry analytické chemie, za cennou analytickou pomoc a doc. MUDr. Marianovi Kacerovskému, Ph.D. z Porodnické a gynekologické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové za ochotné poskytování placentárních vzorků.

Můj dík patří i všem zahraničním kolegům, se kterými jsem měla příležitost pracovat, především pak Dr. Jocelyne Glazier, Ph.D. a Dr. Susane Greenwood, Ph.D. z University of Manchester, a také Prof. Dr. Renate Fuchs, Ph.D. a Dr. Isabella Ellinger, Ph.D. z Medical University of Vienna za veliký zdroj inspirace a názorný příklad obdivuhodné schopnosti sladit profesní roli vědeckou, s nejdůležitější rolí životní, rolí mateřskou.

Veliký dík pak patří i mým rodičům a manželovi Jirkovi za bezmeznou podporu, trpělivost a porozumění a mým dětem, Karolínce s Matýskem za zprostředkování toho nejúžasnějšího pohledu na svět.

V Hradci Králové 11. 5. 2017

PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.



# Obsah

SEZNAM ZKRATEK .....	8
<b>I. TEORETICKÝ ÚVOD .....</b>	<b>10</b>
1. Klasifikace membránových transportérů.....	11
2. Role membránových transportérů ve farmakokinetice.....	12
2.1. ABC (ATP-dependentní) transportéry.....	15
2.2. SLC lékové transportéry.....	19
3. Lékové interakce na úrovni transportérů.....	22
3.3. Lékové interakce ovlivňující ADME-Tox.....	22
3.4. Lékové interakce pro překonání mnohočetné lékové rezistence (MDR) .....	24
4. Placenta a její transportní funkce.....	27
3.5. Experimentální přístupy pro studium transportu látek přes placentu.....	30
<b>II. KOMENTÁŘE K PŘEDLOŽENÝM PRACÍM .....</b>	<b>32</b>
1. Exprese a funkce ABC a vybraných SLC transportérů ve farmakokinetice .....	33
2. ABC transportéry v mnohočetné lékové rezistenci, interakce s inhibitory cyklin-dependentních kináz .....	38
<b>III. STRUČNÝ SOUHRN, ZÁVĚRY A PERSPEKTIVY .....</b>	<b>43</b>
<b>IV. PODÍL PŘEDKLADATELKY PRÁCE NA JEDNOTLIVÝCH PUBLIKACÍCH .....</b>	<b>45</b>
<b>V. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>49</b>
<b>VI. SOUBOR PUBLIKOVANÝCH PRACÍ.....</b>	<b>57</b>
P1. <b>NOVOTNA M</b> , LIBRA A, KOPECKY M, PAVEK P, FENDRICH Z, SEMECKY V AND STAUD F (2004) P-glycoprotein expression and distribution in the rat placenta during pregnancy. <i>Reprod Toxicol</i> 18:785-792.	
P2. <b>CECKOVA-NOVOTNA M</b> , PAVEK P AND STAUD F (2006) P-glycoprotein in the placenta: expression, localization, regulation and function. <i>Reprod Toxicol</i> 22:400-410.	
P3. <b>CECKOVA M</b> , LIBRA A, PAVEK P, NACHTIGAL P, BRABEC M, FUCHS R AND STAUD F (2006) Expression and functional activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2) transporter in the human choriocarcinoma cell line BeWo. <i>Clin Exp Pharmacol Physiol</i> 33:58-65.	

- P4. STAUD F, VACKOVA Z, POSPECHOVA K, PAVEK P, **CECKOVA M**, LIBRA A, CYGALOVA L, NACHTIGAL P AND FENDRICH Z (2006) Expression and transport activity of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in dually perfused rat placenta and HRP-1 cell line. *J Pharmacol Exp Ther* 319:53-62.
- P5. CYGALOVA L, **CECKOVA M**, PAVEK P AND STAUD F (2008) Role of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in fetal protection during gestation in rat. *Toxicol Lett* 178:176-180.
- P6. CYGALOVA LH, HOFMAN J, **CECKOVA M** AND STAUD F (2009) Transplacental pharmacokinetics of glyburide, rhodamine 123, and BODIPY FL prazosin: effect of drug efflux transporters and lipid solubility. *J Pharmacol Exp Ther* 331:1118-1125.
- P7. STAUD F, **CECKOVA M**, MICUDA S AND PAVEK P (2010) Expression and function of p-glycoprotein in normal tissues: effect on pharmacokinetics. *Methods Mol Biol* 596:199-222.
- P8. HAHNOVA-CYGALOVA L, **CECKOVA M** AND STAUD F (2011) Fetoprotective activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2): expression and function throughout pregnancy. *Drug Metab Rev* 43:53-68.
- P9. STAUD F, CERVENY L AND **CECKOVA M** (2012) Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure. *J Drug Target* 20:736-763.
- P10. AHMADIMOGHADDAM D, HOFMAN J, ZEMANKOVA L, NACHTIGAL P, DOLEZELOVA E, CERVENY L, **CECKOVA M**, MICUDA S AND STAUD F (2012) Synchronized activity of organic cation transporter 3 (Oct3/Slc22a3) and multidrug and toxin extrusion 1 (Mate1/Slc47a1) transporter in transplacental passage of MPP+ in rat. *Toxicol Sci* 128:471-481.
- P11. STAUD F, CERVENY L, AHMADIMOGHADDAM D AND **CECKOVA M** (2013) Multidrug and toxin extrusion proteins (MATE/SLC47); role in pharmacokinetics. *Int J Biochem Cell Biol* 45:2007-2011
- P12. AHMADIMOGHADDAM D, ZEMANKOVA L, NACHTIGAL P, DOLEZELOVA E, NEUMANOVA Z, CERVENY L, **CECKOVA M**, KACEROVSKY M, MICUDA S AND STAUD F (2013) Organic cation transporter 3 (OCT3/SLC22A3) and multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter in the placenta and fetal tissues: expression profile and fetus protective role at different stages of gestation. *Biol Reprod* 88:55.
- P13. NEUMANOVA Z, CERVENY L, **CECKOVA M** AND STAUD F (2014) Interactions of tenofovir and tenofovir disoproxil fumarate with drug efflux transporters ABCB1, ABCG2, and ABCC2; role in transport across the placenta. *AIDS* 28:9-17.
- P14. STAUD F AND **CECKOVA M** (2015) Regulation of drug transporter expression and function in the placenta. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 11:533-555.
- P15. NEUMANOVA Z, CERVENY L, GREENWOOD SL, **CECKOVA M** AND STAUD F (2015) Effect of drug efflux transporters on placental transport of antiretroviral agent abacavir. *Reprod Toxicol* 57:176-182.
- P16. REZNICEK J, **CECKOVA M**, CERVENY L, MÜLLER F AND STAUD F (2016) Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters. *Xenobiotica*:1-9.
- P17. NEUMANOVA Z, CERVENY L, **CECKOVA M** AND STAUD F (2016) Role of ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC5 transporters in placental passage of zidovudine. *Biopharm Drug Dispos* 37:28-38.
- P18. REZNICEK J, **CECKOVA M**, TUPOVA L AND STAUD F (2016) Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate. *Placenta* 47:124-129.

- P19. **CECKOVA M**, REZNICEK J, PTACKOVA Z, CERVENY L, MÜLLER F, KACEROVSKY M, FROMM MF, GLAZIER JD AND STAUD F (2016) Role of ABC and Solute Carrier Transporters in the Placental Transport of Lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother* 60:5563-5572.
- P20. **CECKOVA M**, VACKOVA Z, RADILOVA H, LIBRA A, BUNCEK M AND STAUD F (2008) Effect of ABCG2 on cytotoxicity of platinum drugs: interference of EGFP. *Toxicol In Vitro* 22:1846-1852.
- P21. HOFMAN J, AHMADIMOGHADDAM D, HAHNOVA L, PAVEK P, **CECKOVA M** AND STAUD F (2012) Olomoucine II and purvalanol A inhibit ABCG2 transporter in vitro and in situ and synergistically potentiate cytostatic effect of mitoxantrone. *Pharmacol Res* 65:312-319.
- P22. HOFMAN J, KUCERA R, CIHALOVA D, KLIMES J, **CECKOVA M** AND STAUD F (2013) Olomoucine II, but not purvalanol A, is transported by breast cancer resistance protein (ABCG2) and P-glycoprotein (ABCB1). *PLoS One* 8:e75520.
- P23. CIHALOVA D, HOFMAN J, **CECKOVA M** AND STAUD F (2013) Purvalanol A, olomoucine II and roscovitine inhibit ABCB1 transporter and synergistically potentiate cytotoxic effects of daunorubicin in vitro. *PLoS One* 8:e83467.
- P24. CIHALOVA D, **CECKOVA M**, KUCERA R, KLIMES J AND STAUD F (2015) Dinaciclib, a cyclin-dependent kinase inhibitor, is a substrate of human ABCB1 and ABCG2 and an inhibitor of human ABCC1 in vitro. *Biochem Pharmacol* 98:465-472.
- P25. CIHALOVA D, STAUD F AND **CECKOVA M** (2015) Interactions of cyclin-dependent kinase inhibitors AT-7519, flavopiridol and SNS-032 with ABCB1, ABCG2 and ABCC1 transporters and their potential to overcome multidrug resistance in vitro. *Cancer Chemother Pharmacol* 76:105-116.

#### PRÁCE V OPONENTNÍM ŘÍZENÍ (DOPLŇKY 1-2)

- PD1. REZNICEK J., **CECKOVA M.**, PTACKOVA Z., MARTINEC O., TUPOVA L., CERVENY L., STAUD F. (2017) MDR1 and BCRP transporter-mediated drug-drug interaction between rilpivirine and abacavir; effect on intestinal absorption in rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, submitted
- PD2. CIHALOVA D, **CECKOVA M**, SORF A AND STAUD F. Palbociclib (PD 0332991) inhibits human transporters ABCB1 and ABCG2 in vitro. *BMC Cancer*, submitted

## Seznam zkratek

ABC	ATP-dependentní transportní membránový protein (ATP-binding cassette)
ABCB1	P-glykoprotein (P-gp, MDR1)
ABCC	MRP transportér
ABCG2	breast cancer resistance protein (BCRP)
ADME-Tox	absorpce, distribuce, metabolismus, exkrece a toxicita léčiv
AUC	plocha pod křivkou závislosti plazmatických koncentrací léčiva na čase
cART	kombinovaná antiretrovirální terapie
$C_{max}$	maximální dosažená plazmatická koncentrace (léčiva)
CDK	cyklin dependentní kináza
CDKI	inhibitor cyklin dependentních kináz
EMA	Evropská léková agentura (European Medicines Agency)
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (U.S. Food and Drug Administration)
HEB	hematoencefalická bariéra
HTB	hematotestikulární bariéra
ITC	Mezinárodní transportérové konsorcium (International Transporter Consortium)
MATE	multidrug and toxin extrusion protein (SLC47A)
MDR	mnohočetná léková rezistence (multidrug resistance)
NBD	nukleotidy (ATP) vázající doména
NRTI	nukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy
NNRTI	nenukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy
OAT	transportér organických aniontů (organic anion transporter)
OATP	polypeptidy transportující organické anionty
OCT	transportér organických kationtů (organic cation transporter)
P-gp	P-glykoprotein (ABCB1 transportér)
SLC	transportní membránový protein pro elektrolyty (solute carrier)
TDF	tenofovir disoproxil fumarát (prekurzor antiretrovirotika tenofoviru)



TMD	transmembránová doména
WHO	Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

***Poznámka***

*V textu mohou být proteiny označeny velkými nebo malými písmeny v návaznosti na současná doporučení, která používají velká písmena u lidských proteinů a malá písmena u zvířecích ekvivalentů.*

## I. Teoretický úvod

Transportéry jsou membránové proteiny, které zprostředkovávají přechod řady důležitých látek dovnitř a ven z buněk. Kontrolují primárně přestup klíčových endogenních substrátů a živin, např. cukrů, aminokyselin, nukleosidů přes buněčnou membránu i membrány nitrobuněčných organel<sup>1, 2</sup>. Specifita většiny transportérů nicméně není omezena pouze na fyziologické substráty. Schopnost interagovat s transportéry má i celá řada xenobiotik (potravních toxinů, látek ze životního prostředí, ale i léčiv), což může významně podmínit jejich farmakokinetické vlastnosti, tj. absorpci, distribuci i eliminaci z organismu<sup>1, 3, 4</sup>.

Rozmach genomové analýzy a klonování v 90. letech 20. století významně usnadnil identifikaci a charakterizaci celé řady membránových transportérů, které byly do té doby pro svou hydrofobní povahu a často i velmi nízkou expresi přehlíženy. V současné době je tak známo přes 10 000 membránových transportních proteinů řazených do více než 800 transportérových rodin<sup>5, 6</sup>. Databáze PubMed eviduje k dubnu 2017 na půl milionu originálních publikací na téma „membrane transporter“. Přitom v lidském genomu bylo zatím potvrzeno přes 400 různých membránových transportérů<sup>7</sup>. Tyto proteiny plní celou řadu fyziologických funkcí zajišťováním transportu endogenních molekul v rámci nitrobuněčných kompartmentů i mezi vnějším a vnitřním prostředím buňky<sup>8</sup>.

Z farmakologického pohledu se za nejvýznamnější považují zástupci dvou základních transportérových nadrodin: (1) ATP-dependentních, tzv. ABC (ATP-binding cassette) transportérů a (2) SLC (solute carrier) transportních proteinů. Zatímco SLC transportéry hrají klíčovou roli především při přenášení základních molekul nezbytných pro optimální fungování buněk a celých tkání, ABC transportní proteiny jsou spojovány primárně s ochranou organismu a jeho citlivých tkání před potenciálně toxickými účinky xenobiotik. Funkční aktivita zástupců obou těchto rodin je díky řízení farmakokinetických vlastností řady léčiv a možnosti zprostředkování lékových interakcí v poslední době zdůrazňována v souvislosti s rizikem ovlivněním bezpečnosti i účinnosti lékové terapie<sup>3, 4, 9</sup>.

Důležitost problematiky membránových transportérů pro lékovou terapii proto vedla v roce 2010 k ustanovení Mezinárodního transportérového konsorcia (ITC) zahrnujícího renomované odborníky z výzkumné, akademické i průmyslové oblasti. V návaznosti na činnost ITC a jím vypracovaný přehled nejvýznamnějších membránových transportních proteinů zesílil

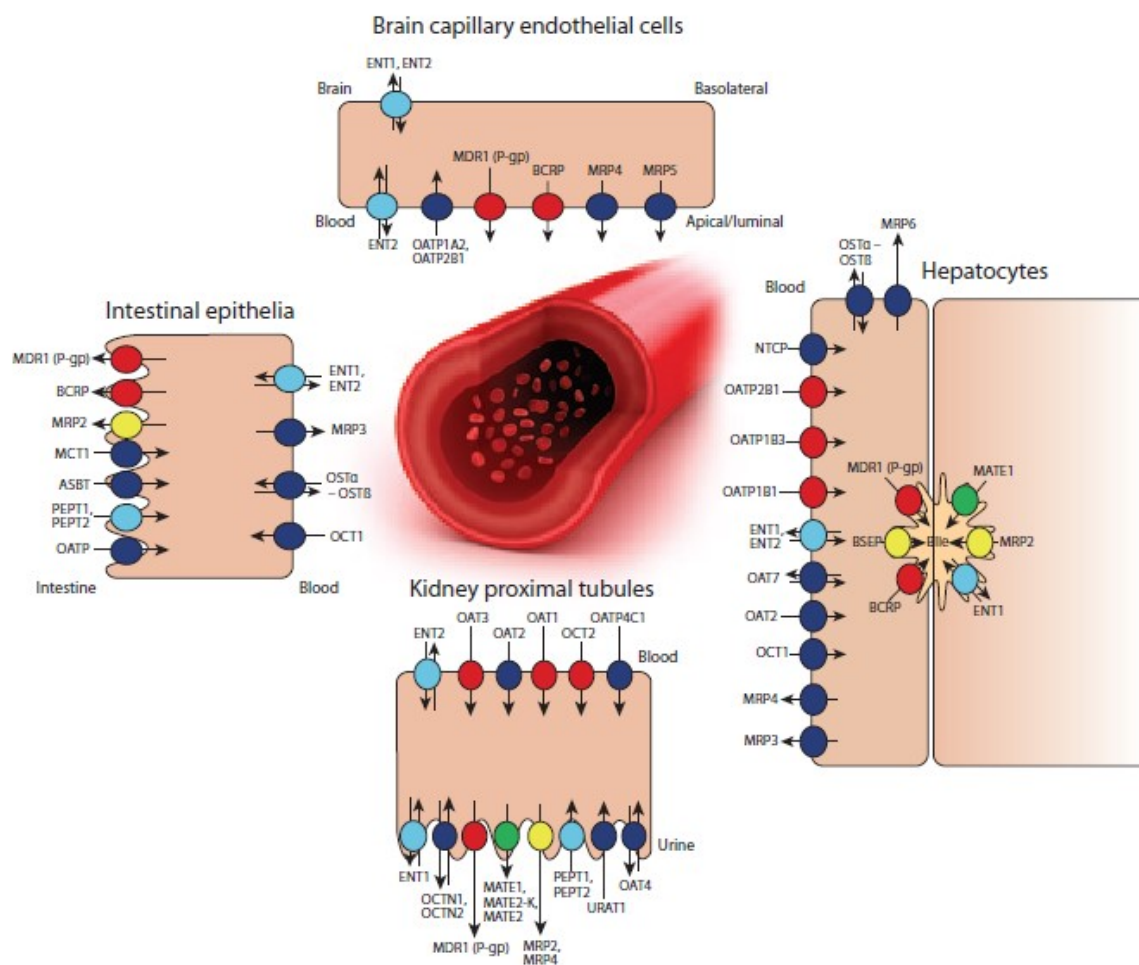
i tlak regulačních lékových agentur na farmaceutický průmysl. Jak americká FDA (Food and Drug Administration), tak Evropská zdravotnická agentura EMA (European Medicines Agency) zdůrazňují nutnost detailní znalosti ohledně nového léčiva a zapojení lékových transportérů v jeho absorpci, distribuci či eliminaci<sup>10, 11</sup>. Protože klinická terapie nezřídka zahrnuje podání dvou a více léčiv, je pro zajištění její bezpečnosti a účinnosti nezbytná analýza možných transportéry-zprostředkovaných farmakokinetických lékových interakcí, jež by mohly vést ke změnám v tkáňových koncentracích, a tím i účinnosti a toxicity podaných léčiv. Detailní charakterizace všech nových i již klinicky používaných léčiv z pohledu schopnosti interagovat s transportéry nicméně zdaleka není kompletní a bude vyžadovat ještě velkou dávku vědeckého úsilí.

## 1. Klasifikace membránových transportérů

Jednotlivé transportní proteiny se liší svou strukturou, substráty a také mechanismy jejich přenosu. Svě substráty mohou transportovat **pasivně** ve smyslu facilitované difúze pomocí elektrochemického gradientu přenášené látky. Takový proces je spontánní, snižuje volnou energii a zvyšuje entropii systému, a proto nespotřebovává chemickou energii<sup>2</sup>. Oproti pasivním transportním proteinům přenáší **aktivní transportéry** typicky své substráty proti jejich elektrochemickému gradientu, což je z pohledu změny entropie proces nevýhodný, vyžadující spotřebu energie. Ta je zpravidla poskytnuta ve formě adenosin trifosfátu (ATP). V případě **primárně aktivního transportu** je ATP hydrolyzován přímo transportérem přenášejícím daný substrát poté, co se tento na transportní protein naváže a vyvolá jeho konformační změnu. Ta pak umožní uvolnění substrátu na druhé straně membrány, jedná se přitom o zásadně jednosměrný transport. U **sekundárně aktivních transportérů** je pro přenos takové molekuly použit iontový gradient (zpravidla Na<sup>+</sup> či H<sup>+</sup> iontů) vytvořený primárně aktivním transportérem<sup>8</sup>. Lékové transportéry mohou být klasifikovány na základě několika různých kritérií. Z pohledu směru přenášeného substrátu je rozdělujeme na **influxní** (přenášející substráty do buňky) či **efluxní** (umožňující transport z buňky ven do okolního prostředí). Z fyziologického pohledu pak rozlišujeme transportéry **sekreční** a **absorpční**. Zatímco ABC rodina vesměs zahrnuje primárně aktivní efluxní transportéry se sekreční funkcí, transportérové proteiny řazené do SLC rodiny jsou sekundárně aktivní či pasivní (ekvilibrační) transportéry zajišťující častěji (ale ne vždy) influx svých substrátů do buněk.

## 2. Role membránových transportérů ve farmakokinetice

Většina lékových transportérů je přirozeně exprimována v polarizovaných, zpravidla epiteliálních buněčných vrstvách tkání s „bariérovou funkcí“, např. v tenkém střevě, mozku, placentě, játrech a ledvinách<sup>4, 12</sup>. V polarizovaných **enterocytech** usnadňují influxní transportéry exprimované v apikální membráně kartáčového lemu absorpci řady výživových látek, zatímco funkční aktivita efluxních transportérů v téže membráně brání vstupu potenciálně toxických molekul do organismu (Obr. 1). Transportéry na bazolaterální membráně enterocytů pak zajišťují výměnu látek mezi střevní výstelkou a krevní cirkulací.



**Obr. 1** Lidské SLC and ABC lékové transportéry exprimované v epiteliálních bariérách, které jsou dle evidence o klinických lékových interakcích klíčové pro hodnocení v průběhu vývoje léčiv. Transportéry, pro něž byla nezbytnost znalosti interakcí s léčivem zdůrazněna již na prvním setkání ITC v roce 2010<sup>9</sup>, jsou vyznačeny červeně. Studium lékových interakcí na úrovni zeleně a žlutě vyznačených transportérů bylo doporučeno ITC následně, o dva roky později<sup>13</sup>. Převzato z práce Giacomini et al, 2013<sup>7</sup>.

Podobně vrstvy **syncytiotrofoblastu v placentě** a **endoteliální vrstva mozkových kapilár** jsou polarizované s influxními transportéry zajišťujícími transport esenciálních látek do mozku a vyvíjejícího se plodu, zatímco efluxní transportéry v apikálních membránách přestup látek k těmto citlivým tkáním omezují.

V hlavních eliminačních orgánech pak efluxní transportéry exprimované na apikální membráně polarizovaných **hepatocytů** a buněk **proximálního tubulu ledvin** usnadňují exkreci látek a jejich metabolitů do žluče a moče a tím jejich vyloučení z organismu<sup>3</sup>. Přitom je však nezbytná synchronní aktivita transportérů na bazolaterální membráně těchto polarizovaných buněk, která zajišťuje nitrobuněčný vstup eliminovaných látek na pólu sousedícím s krevní cirkulací, s transportéry na apikální membráně. Teprve po vstupu do buňky na krevním pólu může být látka transportována na apikálním pólu směrem do moči či žluči, a tím eliminována z organismu (Obr. 1). Pro odlišnou roli transportérů v závislosti na jejich expresi je většina transportérů striktně exprimována pouze na jedné, apikální nebo baz(olater)ální membráně polarizované buňky.

V našich výzkumných projektech, jejichž publikační výstupy jsou součástí této habilitační práce, jsme se zaměřili především na transportéry se sekreční funkcí, tj. omezující absorpci a distribuci léčiv přes biologické bariéry a usnadňující exkreci léčiv a jejich metabolitů z organismu. Jejich přehled je zobrazen v tabulce 1.

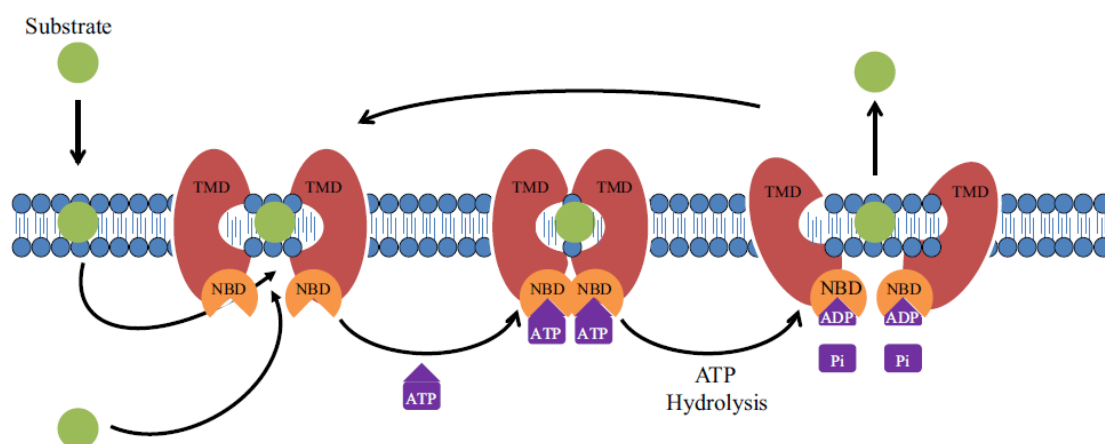
**Tabulka 1** Přehled ABC a SLC transportérů studovaných v rámci této habilitační práce z pohledu jejich lokalizace, orgánové exprese a funkce<sup>12, 14, 15</sup>

<b>Transportér</b>	<b>Název kódujícího genu</b>	<b>Lokalizace na lidském chromozomu</b>	<b>Exprimující tkáň</b>	<b>Lokalizace v polarizovaných buňkách/ Směr transportu</b>
P-glykoprotein (ABCB1, MDR1)	<i>ABCB1</i>	7q21.12	střevo, HEB, HTB, játra, ledviny, placenta, varlata nádorové buňky	apikálně /eflux
BCRP (ABCG2)	<i>ABCG2</i>	4q22	střevo, HEB, HTB, játra, ledviny, placenta, kmenové buňky nádorové buňky	apikálně /eflux
MRP1	<i>ABCC1</i>	16p13.11	plíce, ledviny, varlata, ovaria, srdeční i kosterní sval, placenta nádorové buňky	bazolaterálně, v HEB apikálně/eflux
MRP2	<i>ABCC2</i>	10q24.2	játra, ledviny, tenké střevo, placenta	apikálně /eflux
OCT1	<i>SLC22A1</i>	6q25.3	játra ledviny, tenké střevo (jejunum), plíce	bazolaterálně (plíce apikálně) /influx
OCT2	<i>SLC22A2</i>	6q25.3	ledviny plíce	bazolaterálně (plíce apikálně)/influx
OCT3	<i>SLC22A3</i>	6q25.3	placenta, ledviny tenké střevo (jejunum), plíce	bazolaterálně (enterocyty, plicní epitel apikálně)/influx
MATE1	<i>SLC47A1</i>	17p11.2	játra, ledviny	apikálně/eflux (v experimentálních podmínkách i influx)
MATE-2K	<i>SLC47A2</i>	17p11.2	ledviny	apikálně/eflux (v experimentálních podmínkách i influx)

HEB – hematoencefalická bariéra, HTB - hematotestikulární bariéra

## 2.1. ABC (ATP-dependentní) transportéry

ABC transportéry jsou největší rodinou membránových transportních proteinů, zahrnující 48 genů, členěných na základě své struktury do sedmi podrodin, A – G<sup>15</sup>. Zástupci ABC transportérů existují jako plně funkční nebo tzv. „poloviční“ transportéry vyžadující pro svou plnou aktivitu homo- či heterodimerizaci. Ve své struktuře zahrnují jak transmembránové domény (TMD), tak nukleotidy (ATP) vázající doménu (NBD, nucleotide binding domain) uspořádané u většiny ABC transportérů střídavě: TMD-NBD-TMD-NBD (obr. 2). Všechny tyto transportéry fungují jako primárně aktivní **efluxní pumpy** zodpovědné za ATP-dependentní přenos velké škály xenobiotik, včetně léčiv, lipidů a metabolitů přes plazmatické i intracelulární membrány. Jsou **klíčovou složkou ovlivňující** absorpci, distribuci, metabolismus i exkreci a toxicitu (**ADME-Tox**) **léčiv**<sup>3, 4, 16</sup>, a proto jsou významně diskutovány v rámci studia farmakokinetiky a lékových interakcí. Mezi ABC transportéry schopné interagovat s léčivy patří především P-glykoprotein, BCRP a členové MRP rodiny transportních proteinů, MRP1 a MRP2.



**Obr. 2** Princip funkce ABC transportérů. Po navázání relevantního substrátu z intracelulárního prostoru, popř. z membrány, dochází ke konformační změně transportního proteinu a uzavření substrátu mezi TMD. Následuje navázání ATP na obě NBD a jeho hydrolyza, která je hnací silou transmembránového transportu substrátu proti jeho koncentračnímu gradientu. TMD – transmembránová doména, NBD – doména vázající nukleotidy (ATP). Převzato z práce Chen et al, 2016<sup>17</sup>.

### 2.1.1. P-glykoprotein (MDR1, ABCB1)

P-glykoprotein (P-gp) byl prvním objeveným<sup>18</sup> a dosud zůstává nejlépe popsáným lékovým transportérem. Jedná se o polypeptidový řetězec o velikosti 170 kDa sestávající z 1280 aminokyselin. Složený je ze dvou homologních polovin tvořených vždy jednou TMD sestávající ze šesti  $\alpha$ -helixů a jednou intracelulární NBD zodpovědnou za navázání molekul ATP a jejich následnou hydrolýzu<sup>19-21</sup>. U člověka je P-gp kódován genem *ABCB1*, přičemž dva geny, *Abcb1a/1b* (*Mdr1a/1b*) kódují tento transportér u hlodavců<sup>1</sup>.

P-gp je exprimován v luminální membráně tenkého střeva, v endoteliálních buňkách hematoencefalické (HEB) a hematotestikulární bariéry (HTB) a na apikální straně buněk proximálních renálních tubulů a hepatocytů (tab. 1). **Omezuje tak perorální absorpci** řady xenobiotik včetně **léčiv do organismu**, jejich **distribuci do citlivé tkáně** CNS i zárodečného epitelu a **usnadňuje exkreci** hlavními eliminačními orgány, tj. ledvinami a játry **do moče**, resp. **žluče**<sup>3, 4</sup>. Role P-gp v celotělové farmakokinetice je diskutována a ilustrována v přehledové práci P7, jež je součástí tohoto habilitačního spisu. Exprese a funkce P-glykoproteinu v placentě a jeho **vliv na transplacentární farmakokinetiku** léčiv a ochranu plodu byla v posledních letech i s naším přispěním intenzivně studována a přehledově je sepsána v práci P2. Kromě exprese ve fyziologických tkáních je velmi dobře známa i schopnost P-gp zprostředkovávat **rezistenci nádorových buněk** vůči cytotoxickým léčivům. Jeho vysoká exprese byla popsána v leukemických buňkách a buňkách nádorů prsu, vaječníků, tlustého střeva, ledvin i jater, a je spojována s nízkou klinickou odpovědí na protinádorovou farmakoterapii a špatnou prognózou nádorových onemocnění<sup>22-24</sup>.

Typickou vlastností P-gp je schopnost transportovat celou řadu zpravidla hydrofobních **substrátů velmi rozdílných** struktur, v případě léčiv pak látek řazených i do **různých farmakoterapeutických skupin** (Tabulka 2).

### 2.1.2. BCRP (ABCG2)

BCRP (breast cancer resistance protein) získal svůj název díky detekci v rezistentní buněčné linii MCF-7 odvozené od karcinomu prsu, v roce 1998<sup>3, 25, 26</sup>. Ve stejné době byla popsána i jeho **vysoká exprese v placentě**<sup>27</sup>, díky níž si získal dnes již minimálně používané označení „placentární ABC transportér (ABCP)“, a následně i navození rezistence na mitoxantron u střevní buněčné linie, což vedlo k jeho označení MXR, „mitoxantron rezistentního protein“<sup>28</sup>.



Tvořen je jedním polypeptidickým řetězcem o 655 aminokyselinách (72 kDa) a na rozdíl od P-gp sestává pouze z jedné TMD a jedné NBD. Považován je za tzv. „poloviční transportér“, který pro svou plnou funkci musí vytvářet v membráně zpravidla dimery, popř. multimery<sup>29</sup>.

Stejně jako P-gp je BCRP exprimován na apikální membráně polarizovaných buněk řady fyziologických tkání (Obr. 1), kde plní důležitou **ochrannou funkci před toxickým působením** různých látek<sup>4, 30</sup>. BCRP je přítomen i v membráně kmenových buněk, které svou efluxní aktivitou chrání před xenobiotiky<sup>30, 31</sup> a transportem hemu a porfyrinu zároveň reguluje buněčnou homeostázu<sup>32</sup>. Navíc je schopný sekretovat riboflavin, biotin a vitamin K, do mateřského mléka<sup>33</sup>. Biologickými substráty BCRP je široká škála exogenních i endogenních molekul (tab. 2). Expresí **v nádorových buňkách zajišťuje BCRP jejich rezistenci** vůči mitoxantronu, topotekanu nebo irinotekanu (Tabulka 2) a predikuje nedostatečnou odpověď na cytostatickou léčbu především u dětských a dospělých pacientů s akutní myeloidní leukémií<sup>34, 35</sup>, u karcinomu jícnu<sup>36</sup> a renálního karcinomu<sup>37</sup>. Vyšší exprese BCRP byla přítom nalezena především v kmenových, méně diferencovaných nádorových buňkách<sup>38, 39</sup>.

### 2.1.3. MRP (ABCC) transportní proteiny

MRP (multidrug resistance-associated protein) rodina transportérů zahrnuje 9 členů kódovaných geny *ABCC1-ABCC6* a *ABCC8-ABCC10*. Z farmakologického pohledu jsou za nejvýznamnější považovány především první dva zástupci, MRP1 a MRP2.

#### 2.1.3.1. MRP1 (ABCC1)

MRP1 transportér je tvořen jedním polypeptidovým řetězcem složeným z 1531 aminokyselin (190 kDa). Strukturně je velmi blízký P-gp s dvěma TMD následovanými dvěma NBD na cytoplazmatické straně membrány. Oproti P-gp ale MRP1 obsahuje ještě třetí TMD složenou z pěti  $\alpha$ -helixů<sup>40</sup>. Dalším rozdílem oproti P-gp je **lokalizace MRP1 zpravidla na bazolaterální membráně polarizovaných buněk**, výjimkou jsou endoteliální buňky mozkových kapilár, kde je MRP1 exprimován na apikální membráně<sup>41</sup>. Studie popisující expresi MRP1 v placentárním trofoblastu nejsou konzistentní, zatímco první, často citovaná práce, uvádí lokalizaci tohoto transportéru na apikální membráně<sup>42</sup>, pozdější studie demonstrují spíše lokalizaci na membráně bazální<sup>43, 44</sup>. Ostatní tkáně exprimující MRP1 zahrnují plíce, ledviny, varlata, ovaria, srdeční i kosterní sval (tab. 1). **MRP1 je důležitý pro normální funkci buněk** (transport endogenních látek a fyziologických substrátů) a pro **exkreci metabolitů**<sup>45</sup>. Identifikován byl

jako další transportní protein snižující, podobně jako P-gp, akumulaci cytostatik **v nádorových buňkách a způsobující jejich mnohočetnou lékovou rezistenci (MDR)**. Vysoká exprese MRP1 byla nalezena v nádorech plic, prsu, prostaty, vaječníků, melanomech a leukémiích<sup>46</sup>. Negativní korelace mezi expresí MRP1 a délkou období do progresu onemocnění i celkovou dobou přežití byla popsána u pacientek s nádorem prsu<sup>47, 48</sup>, u nemalobuněčného plicního karcinomu i leukémií, souvislost mezi expresí MRP1 a negativní prognózou byla popsána i u primárního neuroblastomu<sup>39, 49</sup>. MRP1 vykazuje širokou substrátovou specifitu (Tab. 2) s vyšší afinitou vůči hydrofobním a aniontovým molekulám, konjugátům glukuronidu a glutathionu a fyziologickým substrátům (cysteinyl leukotrieny, foláty, konjugáty steroidů s glutathionem apod.)<sup>50</sup>.

#### 2.1.3.2. MRP2 (ABCC2)

MRP2 byl prvně klonován v roce 1996, kdy získal označení cMOAT (canalicular multispecific organic anion transporter)<sup>51</sup>. Podobně jako MRP1 sestává i MRP2 ze tří TMD a dvou NBD<sup>52</sup>. MRP2 je exkluzivně exprimován na apikální membráně hepatocytů, renálních proximálních tubulů, tenkého střeva i v placentě<sup>1, 42</sup>. Známy je pro svou **klíčovou roli v biliární exkreci** celé řady organických aniontů, glukuronidů, sulfátů a glutathionových konjugátů (tab. 2), částečně přispívá i k enterohepatální recirkulaci léčiv a jejich metabolitů. Genetická mutace v *ABCC2* způsobuje Dubin-Johnsonův syndrom, onemocnění charakterizované hyperbilirubinemií díky sníženému transportu konjugovaného bilirubinu do žluče<sup>53, 54</sup>.

Na rozdíl od P-gp, BCRP a MRP1 transportérů nebyla u MRP2 potvrzena role v rezistenci nádorových buněk.

## Tabulka 2

Přehled vybraných substrátů a inhibitorů ABC transportérů<sup>1, 4, 9, 38</sup>

Transportér	Substráty	Inhibitory
P-glykoprotein	daunorubicin, doxorubicin, docetaxel, imatinib, mitoxantron, topotekan, vinblastin, vinkristin, paklitaxel, lapatinib, sunitinib, tandutinib cefoperazon, desimipramin, digoxin, erytromycin, chinidin, indinavir, loperamid, ritonavir, trazodon, Rhodamin 123, Calcein AM, Hoechst 33342	cyklosporin A, verapamil, zosuquidar, chinidin, tariquidar, elakridar
BCRP	etoposid, erlotinib, gefitinib, imatinib, irinotekan, lapatinib, mitoxantron, sunitinib, topotekan atorvastatin, ciprofloxacin, flavopiridol, furosemid, grepafloxacin, nitrofurantoin, ofloxacin, prazosin, rosuvastatin biotin, estradiol-17β-glukuronid, estron-3-sulfát, glyburid, riboflavin, vitamin K, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) Hoechst 33342	fumitremorgin C, elakridar
MRP1	daunorubicin, doxorubicin, epirubicin, etoposid, irinotekan, metotrexát, topotekan, vinblastin, vinkristin grepafloxacin, chinidin, saquinavir cysteinyl leukotrieny, glukuronidy a sulfátové konjugáty, estradiol-17β-glukuronid, estron-3-sulfát, aflatoxin B1, leukotrieny C <sub>4</sub> , D <sub>4</sub> a E <sub>4</sub> calcein	cyklosporin A, MK-571, probenecid, indometacin
MRP2	cisplatina, doxorubicin, etoposid, metotrexát, mitoxantron, vinblastin valsartan, olmesartan, ritonavir, saquinavir glutathionové, glukuronidové a sulfatované konjugáty calcein	cyklosporin A, MK-571, probenecid, indometacin

## 2.2. SLC lékové transportéry

SLC transportéry představují po receptorech spřažených s G proteiny druhou největší rodinu membránových proteinů. Stejně jako ABC transportéry hrají roli v **dispozici léčiv** v organizmu, nicméně jejich hlavní význam spočívá ve **zprostředkování transportu endogenních látek** v organizmu. Strukturálně se jedná o velmi heterogenní skupinu lišící se výrazně v počtu (1-14) transmembránových jednotek<sup>12, 55, 56</sup>. Funkčně mohou být tyto transportní proteiny rozděleny na závislé na iontovém gradientu (především Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> a H<sup>+</sup>) anebo ekvilibrační transportní proteiny.

Identifikováno bylo dosud 52 rodin SLC transportérů, přitom většina z nich se výrazně překrývá ve spektru svých substrátů<sup>56</sup>. Z farmakokinetického pohledu jsou nevíce studovány transportéry organických kationtů (organic cation transporters OCTs/SLC22A), tzv. MATE transportéry (the multidrug and toxin extrusion transporters, MATE transporters/SLC47A), transportéry organických aniontů (organic anion transporters, OATs/SLC22A) a organické

anionty transportující polypeptidy (the organic anion transporting polypeptides, OATPs/SLCO)<sup>3, 9</sup>. V publikačních výstupech, jež jsou součástí této habilitační práce, jsme se zabývali z SLC transportérů pouze OCT a MATE, ty jsou proto dále detailněji popsány.

### 2.2.1. OCT (SLC22A)

Transportéry organických kationtů, OCT, identifikované u člověka zahrnují tři členy: OCT1 (SLC22A1) a OCT2 (SLC22A2), které jsou lokalizované v bazolaterální membráně hepatocytů, resp. proximálních tubulů ledvin a OCT3 (SLC22A3), jež je přítomný v řadě tělesných tkání včetně placenty<sup>57</sup>. Strukturálně se jedná o membránové proteiny o 542–556 aminokyselinách a dvanácti  $\alpha$ -helikálních transmembránových doménách. OCT jsou polyspecifické transportéry zajišťující vychytávání malých, zpravidla pozitivně nabitých látek do buněk.<sup>12</sup> Kromě látek endogenních, jako jsou monoaminové neurotransmitery a kreatinin, patří mezi jejich substráty i celá řada léčiv<sup>1, 3</sup>, např. antidiabetikum metformin, antagonist H<sub>2</sub> receptoru cimetidin, některá platinová cytostatika a antivirotika (tab. 3). Inhibitory těchto transportérů jsou naopak zpravidla lipofilní látky, též s pozitivním nábojem. Pro svou predominantní expresi v basolaterální membráně hepatocytů představuje **OCT1** důležitý mechanismus zprostředkující **první krok v jaterní exkreci léčiv** povahy kationtů<sup>1, 58</sup>. Podobně **OCT2** je klíčovým transportérem zajišťujícím první krok **ledvinné exkrece kationických léčiv** jejich vychytáváním do polarizovaných buněk proximálního tubulu ledvin<sup>55</sup>. **OCT3** pak byl popsán **v placentě** i jiných tkáních<sup>59-61</sup> (tab. 1), kde zajišťuje vychytávání endogenních substrátů i xenobiotik do polarizovaných buněk a může hrát roli např. v transplacentární kinetice léčiv.

### 2.2.1. MATE (SLC47A)

MATE transportéry SLC47A rodiny patří mezi relativně nedávno identifikované membránové membránové proteiny důležité v transportu kationtů<sup>62</sup>. Strukturálně sestávají lidské MATE transportéry z třinácti transmembránových domén<sup>63</sup>. **MATE1 (SLC47A1)** byl detekován v nejrůznějších tkáních (tab. 1), nicméně **predominantně je exprimován v játrech a ledvinách**, kde je lokalizován na kanalikulární membráně hepatocytů a lumenální membráně proximálních tubulů<sup>55, 58, 63</sup>. Oproti MATE1 je **MATE2-K**, jediná známá funkční varianta MATE2 proteinu kódovaného lidským **SLC47A2** genem, přítomný **výlučně v proximálních tubulech ledvin**. Lokalizován je přítom (stejně jako MATE1) na lumenální membráně, kde v závislosti na

fyzilogickém pH gradientu zajišťují antiportem s H<sup>+</sup> ionty eflux svých substrátů do moče<sup>64, 65</sup>. Substráty i inhibitory MATE transportérů se výrazně překrývají s látkami interagujícími s OCT transportními proteiny, proto byla role MATE v exkreci kationických látek poměrně dlouhou dobu přehlížena. Na základě současných poznatků je již zřejmé, že MATE transportéry s OCT spolupracují ve smyslu zajištění exkrece kationických léčiv do žluče a moče. Jejich substráty vstupují do polarizovaných buněk exkrečních orgánů na krevním pólu právě pomocí OCT, MATE pak zajišťují eflux přenášených látek na apikálním pólu buněk<sup>63, 66</sup>.

**Tabulka 3.** Přehled vybraných substrátů a inhibitorů studovaných SLC transportérů<sup>1, 9, 67</sup>. Substráty jsou řazeny po skupinách v pořadí endogenní substráty, léčiva, modelové látky.

Transportér	Substrát	Inhibitor
<b>OCT1</b>	acetylcholine, cholin, dopamin, serotonin acyklovir, cimetidin, famotidin, oxaliplatina, zalcitabin ASP <sup>+</sup> , tetraethylammonium (TEA), -methyl-4-phenylpyridinium (MPP)	chinin, chinidin, disopyramid, amitryptilin, verapamil
<b>OCT2</b>	acetylcholine, adrenalin, noradrenalin, chinin, cholin, dopamin, histamin, serotonin, prostaglandin E2, prostaglandin F2 amantadin, amilorid, cimetidin, cisplatina, lamivudin, memantin, metformin, N-methylnikotinamid, oxaliplatina, paraquat, pindolol, prokainamid, ranitidin, vareniklin, zalcitabine ASP <sup>+</sup> , tetraethylammonium (TEA), -methyl-4-phenylpyridinium (MPP)	cimetidin, cetirizin, dabigatran, chinidin, irinotekan, ondansetron, pentamidine, pilsikainid, testosteron
<b>OCT3</b>	Adrenalin, dopamin, guanidin, histamin atropin, ASP <sup>+</sup> , tetraethylammonium (TEA), -methyl-4-phenylpyridinium (MPP)	bithionol, famotidin, imatinib, pentamidin
<b>MATE1</b>	kreatinin, estrone sulfate, ganciclovir, guanidin, thiamin acyklovir, cephalixin, cephradine, cimetidine, metformin, oxaliplatina, paraquat, prokainamid, tenofovir, topotekan ASP <sup>+</sup> , tetraethylammonium (TEA), -methyl-4-phenylpyridinium (MPP) tetraethylammonium	cimetidine, buspiron, granisetron, chinidin, mitoxantron, ondansetron, prazosin, prokainamid, risperidon, ritonavir, trimetoprim
<b>MATE2-K</b>	kreatinin, estrone sulfate, guanidin, thiamin acyklovir, cimetidine, ganciclovir, metformin, oxaliplatina, paraquat, prokainamid, tenofovir, topotekan ASP <sup>+</sup> , tetraethylammonium (TEA), -methyl-4-phenylpyridinium (MPP) tetraethylammonium	cimetidin, chinidin, mitoxantron, pramipexol, trimetoprim

### 3. Lékové interakce na úrovni transportérů

Kombinace dvou a více léčiv během terapie představuje nemalé riziko vzniku klinicky relevantních lékových interakcí. V případě **interakce na úrovni lékových transportérů** dochází k **ovlivnění plazmatických i tkáňových koncentrací** jednoho léčiva druhou, současně podanou terapeutickou látkou, a tím k nebezpečí snížené účinnosti terapie nebo zvýšené toxicity oproti situaci, kdy je první léčivo podáno samotné<sup>16, 68, 69</sup>. Problematika lékových interakcí zprostředkovaných transportéry přitom zahrnuje jak snahu o **prevenci podání nevýhodných kombinací léčiv**, tak například **cílené hledání kombinace cytotoxických léčiv s inhibitory transportérů za účelem překonání MDR**.

#### 3.3. Lékové interakce ovlivňující ADME-Tox

Interakce léčiv na transportérech může spočívat jak v inhibici, tak indukcii transportního proteinu. Nejvýrazněji se projevují lékové interakce na transportérech lokalizovaných v tenkém střevě, kde ovlivňují **absorpci** léčiv po jejich perorálním podání. Lékové interakce na transportérech přítomných v játrech nebo ledvinách mohou významně pozměnit **exkreci** léčiv a jejich metabolitů. **Přestup léčiva do citlivých tkání** pak může být ovlivněn interakcí na úrovni transportérů přítomných v biologických bariérách, tj. v HEB, HTB či v placentě. Transportéry, u nichž byla detailněji popsána možnost zprostředkování klinicky významných lékových interakcí, zahrnují P-glykoprotein, BCRP, MRP2 a též několik SLC transportérů včetně OCT a MATE<sup>9, 13</sup>.

Na úrovni **střevních efluxních transportérů** byla již v klinické praxi popsána celá řada významných interakcí léčiv. Například při současném perorálním podání P-gp substrátu digoxinu s P-gp inhibitory (např. makrolidem klaritromycinem či chinidinem) je pozorovaná zvýšená biologická dostupnost digoxinu a významně vyšší plazmatické hladiny (často i nad horní mezí terapeutického rozmezí) ve srovnání s léčbou samotným digoxinem<sup>70, 71</sup>. Podání rifampicinu, induktoru P-gp, naopak vedlo ke snížení AUC a  $C_{max}$  perorálně podaného digoxinu, které korelovalo s 3,5x vyšší expresí P-gp v duodenu<sup>69</sup>. Podobně interindividuální variabilita ve funkci BCRP a exprese BCRP se sníženou transportní funkcí v důsledku genového polymorfismu pravděpodobně vede ke zvýšení AUC a  $C_{max}$  atorvastatinu i rosuvastatinu<sup>72</sup> a podobný efekt lze předpokládat i jako důsledek lékové interakce při snížení efluxu těchto léčiv současným podáním BCRP inhibitoru<sup>3, 69</sup>.

Lékové interakce ovlivňující **jaterní exkreci** často zahrnují SLC transportéry jako OATP, popsána byla ale řada interakcí i na úrovni efluxních transportérů. Kombinace chinidinu nebo verapamilu, inhibitorů P-gp s digoxinem, výše zmiňovaným P-gp substrátem, zvyšuje výrazně jaterní clearance digoxinu oproti pacientům s monoterapií digoxinem<sup>73-75</sup>. Podobně se na základě *in vivo* studií na zvířatech předpokládá, že inhibice efluxu metforminu v hepatocytech prostřednictvím MATE1 může vést k zvýšení terapeutického účinku metforminu, a přitom ke zvýšenému riziku laktátové acidózy<sup>69</sup>.

**Exkrece léčiv v ledvinách** je zajištěna glomerulární filtrací a tubulární sekrecí, za kterou zodpovídá vychytávání látek transportéry na bazolaterální straně a jejich eflux na apikálním pólu buňky. Inhibice těchto transportních procesů pak může snížit renální clearance léčiv. Navíc u nefrotoxických léčiv může změna intracelulární koncentrace v buňkách renálních tubulů v důsledku lékové interakce vést k poškození ledvin.

Princip inhibice transportérů účastnících se tubulární exkrece byl využit již před třiceti lety při podání probenecidu, inhibitoru OAT transportérů, pro zvýšení plazmatických hladin a tím prodloužení účinku antibiotika benzylpenicilinu<sup>69, 76</sup>. Řada klinicky relevantních interakcí byla popsána u OCT2, kdy podání cimetidinu, známého inhibitoru OCT, vedlo ke snížení renální clearance metforminu, ranitidinu a vareniklinu<sup>69</sup>. Inhibice aktivity OCT2, ať už terapeuticky či na podkladě interindividuální variability, vede ke snížení nefrotoxicity protinádorového léčiva cisplatiny<sup>77-79</sup>.

Interakcí platinových cytostatik s ledvinnými transportéry OCT a MATE je vysvětlována odlišná **nefrotoxicita** některých jejich zástupců. Oxaliplatin, která vykazuje velmi nízkou toxicitu v renálních buňkách, je vychytávána do buněk proximálních tubulů pomocí OCT transportérů a následně exkretována do moči prostřednictvím MATE1 a MATE2-K na apikálním pólu buňky. Cisplatin, vychytávaná do renálních buněk též pomocí OCT, není substrátem MATE efluxních transportérů, což koreluje s její vyšší akumulací v ledvinách a nežádoucí nefrotoxicitou<sup>58, 80</sup>. Nedaplatin a karboplatin, které nejsou substráty ani OCT ani MATE, nefrotoxicitu a zvýšený vstup do renálních buněk nevykazují. Kombinace chinidin-digoxin pak způsobuje lékovou interakci na úrovni renálního P-gp, kdy chinidin výrazně snižuje exkreci digoxinu do moči (tj. majoritní cestu eliminace digoxinu z organismu)<sup>69</sup>. Na stejném principu inhibují v klinických studiích renální clearance digoxinu i ritonavir a itraconazol<sup>81, 82</sup> a podobný mechanismus

vzniku lékových interakcí na úrovni renální exkrece léčiv se předpokládá i u BCRP substrátů<sup>9, 69</sup>.

Lékové interakce zprostředkované transportéry na úrovni **distribuce léčiv do citlivých tkání** nejsou zdaleka tak prozkoumané jako lékové interakce na úrovni absorpce a exkrece. Předpokládá se vliv inhibitorů P-gp na zvýšený přestup jeho substrátů přes HEB, na což poukazuje např. klinická studie s chinidinem (P-gp inhibitorem) a loperamidem (P-gp substrátem)<sup>83</sup>. Současná znalost ohledně interakcí léčiv na úrovni dalších biologických bariér, jako jsou HTB či placenta je ale zatím minimální.

Pro vysoké riziko ovlivnění bezpečnosti a účinnosti farmakoterapie je studium farmakokinetických lékových interakcí zprostředkovaných transportéry důrazně doporučováno ITC i hlavními lékovými regulačními agenturami, jak v Evropě, tak v USA<sup>11, 84-86</sup>.

**Riziko interakcí přitom stoupá** v případě klinických stavů, kdy je nezbytné **podání dvou a více léčiv zároveň**. Taková situace nastává typicky v případě pacientů, kteří trpí několika onemocněními najednou, nebo u infekčních nemocí, kde se kombinace léčiv volí pro nutnost omezení rizika vzniku lékové rezistence infekčního agens. Takovým příkladem je **léčba HIV pozitivních pacientů**, včetně těhotných žen, která na základě aktuálních doporučení WHO sestává z **kombinace zpravidla tří antiretrovirálních látek**, a to nejčastěji dvou nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy (NRTI) plus jednoho nenukleosidového inhibitoru reverzní transkriptázy (NNRTI) nebo inhibitoru proteáz<sup>87</sup>. Přitom u celé řady antiretrovirotik byla v průběhu posledních let popsána schopnost interagovat s lékovými transportéry, a to jak ve smyslu jejich inhibice či indukce, tak z pohledu substrátové afinity<sup>88</sup> a riziko interakcí může být tedy považováno za poměrně vysoké.

Interakcí antiretrovirálních látek s lékovými transportéry a možností vzniku farmakokinetických interakcí léčiv jsme se zabývali v projektech, jejichž výstupy tvoří velkou část tohoto habilitačního spisu, a jsou proto diskutovány v oddílu II (Komentáře k předloženým pracím).

### 3.4. Lékové interakce pro překonání mnohočetné lékové rezistence (MDR)

MDR představuje jeden z hlavních problémů efektivní protinádorové terapie. Velmi často selhává léčba onkologických onemocnění díky **MDR způsobené farmakokinetickým**



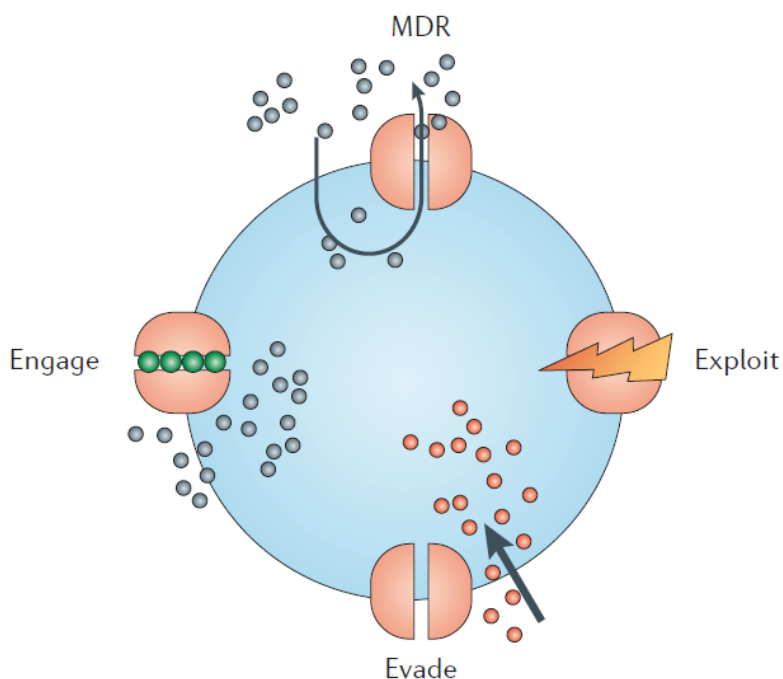
**mechanizmem**, tj. snížením nitrobuňkové koncentrace léčiva aktivním efluxem ven z nádorových buněk, případně jeho inaktivací biotransformačními enzymy. Jak bylo zmíněno výše, za aktivní **eflux** nejčastěji zodpovídají **P-gp, BCRP a MRP1** transportéry<sup>89</sup>. Jejich identifikace v nádorových buňkách a negativní korelace jejich exprese v nádorech s dobou přežití pacientů, příp. délkou doby, kdy byl pacient v remisi, vedla v posledních desetiletích k logické snaze najít vhodné účinné **inhibitory (modulátory) těchto ABC lékových transportérů**<sup>90-92</sup>. Základní hypotézou přitom byla představa o zvýšení koncentrace cytostatika v buňce na cytotoxickou hladinu pomocí současného podání látky modulující (inhibující) transportérem zprostředkovaný eflux (Obr. 3).

První optimistické studie v 80. letech prokázaly, že verapamil zvyšuje cytotoxicitu vinkristinu a vinblastinu v P-gp exprimující rezistentní buněčné linii<sup>93</sup> a podobně cyklosporin A je schopný v rezistentní leukemické buněčné linii kompletně překonat transportérem zprostředkovanou rezistenci vůči vinkristinu a daunorubicinu<sup>94</sup>. Spolu s dalšími léčivy schválenými primárně pro jiné indikace, ale prokazujícími inhibici P-gp (např. chininem), byly verapamil a cyklosporin A označeny jako **modulátory 1. generace**. První klinické studie prokázaly léčebný benefit těchto látek, např. kombinace cyklosporinu A s cytarabinem a daunorubicinem u pacientů s akutní myeloidní leukémií<sup>95</sup>. V dalších studiích se ale kombinace modulátorů 1. generace potýkala s nedostatečnou efektivitou nebo schopností překonat rezistenci pouze ve vysokých, zpravidla již toxických koncentracích<sup>92, 96, 97</sup>. Začátek éry **modulátorů 2. generace** byl spojen s objevem analogu cyklosporinu A, látkou označovanou jako PSC-833 (Valspodar). Vůči P-gp vykazuje PSC-833 až desetinásobně vyšší inhibiční potenci a postrádá přitom imunosupresivní účinky cyklosporinu A<sup>98</sup>. V klinickém zkoušení se nicméně projevila výrazná interakce nejen na úrovni nádorových buněk, ale též ve zdravých tkáních, což vedlo ke snížení clearance a metabolismu současně podaných cytostatik, zvýšení jejich plazmatických hladin a nutnosti empirických úprav v dávkování. Řada pacientů pak byla poddávkována, zatímco u jiných se projevila orgánová toxicita. Pro velmi obtížnou predikovatelnost výsledků a nedostatečný očekávaný benefit byl další vývoj Valspodaru ukončen<sup>99-102</sup>. Podobně byl zastaven vývoj i dalšího modulátoru druhé generace, VX-710 (biricodaru)<sup>92</sup>. **Modulátory 3. generace**, jako např. LY335979 (zosuquidar), GF120918 (elakridar) a XR9576 (tariquidar), byly vyvinuty jako selektivní inhibitory ABC transportérů<sup>103</sup>, postrádající oproti předchozí generaci schopnost ovlivňovat aktivitu biotransformačních enzymů. Zvýšení citlivosti nádorových buněk vůči

několika cytostatikům bylo prokázáno při současném podání již velmi nízkých nanomolárních koncentracích tariquidaru, navíc při kombinaci s doxorubicinem u myši nebylo pozorováno viditelné zvýšení toxicity<sup>104</sup>. Následující klinické studie s tariquidarem nicméně pozorovaly zvýšení toxicity chemoterapie a další testování tohoto MDR modulátoru tak bylo zastaveno.

Řada modulátorů posledních dvou generací (např. biricodar nebo elacridar) prokázala schopnost kromě P-gp též BCRP a MRP1, což na jednu stranu zvyšuje potenciál překonání rezistence působením na další efluxní mechanismus, na druhou stranu ale zvyšuje riziko vedlejších účinků prostřednictvím LI ve fyziologických tkáních. Specifické inhibitory MRP1 a BCRP, MK-571<sup>105</sup>, resp. fumitremorgin C<sup>106</sup>, se běžně používají *in vitro* či *in vivo* experimentech. Jako modulátory mnohočetné lékové rezistence však v klinickém hodnocení nebyly testovány.

Přestože souvislost mezi expresí P-gp, BCRP a MRP2 v nádorové tkáni a negativní prognózou onemocnění byla řadou studií potvrzena, **princip překonání rezistence inhibicí efluxní funkce těchto transportérů zůstává stále sporný**. Szakacs et al.<sup>107</sup> na základě dosavadních poznatků spekuluje o možnosti využití tzv. „vedlejší senzitivity“ nádorových buněk založené mimo jiné i na aktivaci cesty apoptózy u nádorových buněk exprimujících efluxní transportéry (Obr. 3). V souladu s touto úvahou je i fakt, že se po neúspěchu s tradičními modulátory ABC transportérů posouvá zaměření výzkumu ohledně překonávání MDR ke sloučeninám, které primárně nebyly vyvinuty jako modulátory mnohočetné lékové rezistence, ale jako látky pro cílenou protinádorovou terapii.



**Obr. 3** Základní hypotéza pro překonání MDR u nádorových buněk prezentovaná v Nature Reviews v roce 2006<sup>92</sup>. Aktivní eflux cytostatika ven z nádorové buňky způsobuje snížení koncentrace tohoto léčiva pod cytotoxickou koncentraci a umožňuje přežití buňky. Základní možnosti jak překonat takovou rezistenci je najít látky inhibující tento efluxní mechanismus („engage“), a tím zvýšit koncentraci cytostatika nad práh cytotoxicity. Druhou možností je léčba s použitím cytostatika, které není substrátem efluxní pumpy („evade“), případně využití jiné možnosti tzv. „vedlejší senzitivity“ nádorových buněk (‘exploit’).

#### 4. Farmakoterapie v těhotenství, role placenty

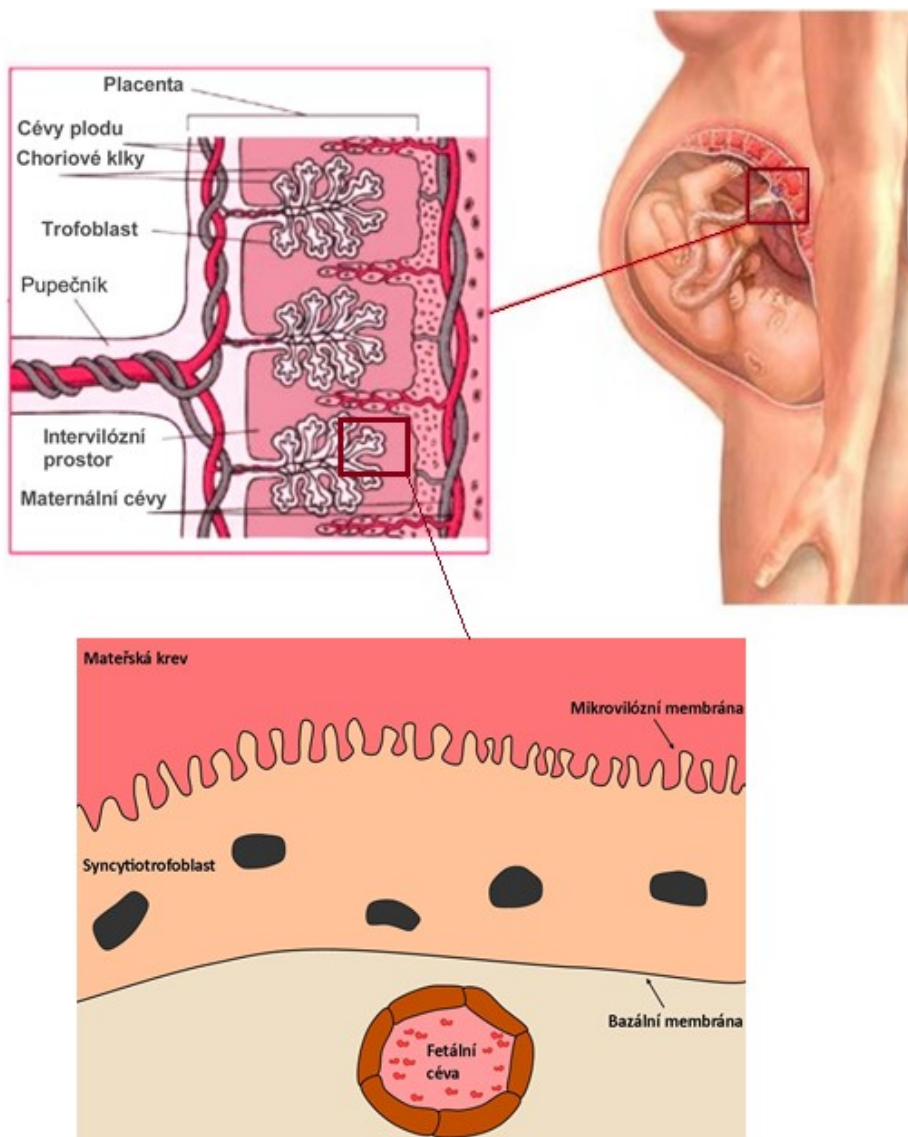
Farmakoterapie těhotných žen je nevyhnutelná, ať už z důvodu potřeby léčby akutního stavu či nezbytnosti pokračovat i v průběhu gestace s léčbou chronického onemocnění. Bezpečnost a účinnost terapie pro plod závisí ve velké míře na jeho expozici podaným léčivům.

Podstatná část publikací, jež jsou součástí tohoto habilitačního souboru, tvoří studie zabývající rolí transportérů v přenosu léčiv z matky do plodu a rizikem vzniku lékových interakcí na úrovni transplacentární farmakokinetiky. Klíčovým orgánem pro transport léčiv z matky do plodu je přitom placenta, proto je jí věnována následující část teoretického úvodu.

#### 4.1.Placenta a její transportní funkce

**Placenta** je dočasný orgán primárně zajišťující výživu i ochranu plodu, a tím jeho optimální růst a vývoj v průběhu těhotenství. Tato tkáň **přivádí do těsné blízkosti krevní oběh matky s krví plodu**, čímž umožňuje absorpci živin, exkreci metabolitů i výměnu plynů a dalších endogenních i exogenních látek<sup>108</sup>.

V případě člověka se jedná o diskoidní orgán, který má na konci těhotenství průměr cca 15-20 cm a hmotnost kolem 500 g. Tvořen je plodovou částí (chorion frondosum) a částí mateřskou (decidua basalis). Decidua basalis vytváří septa, jež rozdělují placentu na několik funkčních jednotek (kotyledonů) tvořených rozvětveným stromem choriových klků, omývaných mateřskou krví (Obr. 4). Uvnitř choriových klků jsou přítomné cévy plodu vystlané endoteliálními buňkami. Krevní oběh plodu tak od krve matky odděluje endotel fetálních cév a především trofoblast, tenká vrstva pokrývající povrch choriových klků (Obr. 4).



**Obr. 4** Schematická struktura lidské placenty (zpracováno dle prací Jones et al.<sup>109</sup> a Sibley et al.<sup>109, 110</sup> a částečně převzato z dizertační práce Čečková, 2005<sup>111</sup>)

Trofoblast v průběhu vývoje placenty sestává především z mnohojaderné **polarizované vrstvy syncytiotrofoblastu**, která vzniká fúzí původních kmenových buněk cytotrofoblastu.<sup>109</sup> Na jedné straně je syncytiotrofoblast ohraničen mikrovilózně zvlněnou apikální membránou, jež je v přímém kontaktu s mateřskou krví, směrem ke krevnímu oběhu plodu je pak obrácen bazální membránou (Obr. 2). Aby mohla látka přítomná v mateřské krvi dosáhnout cirkulace plodu, musí překonat nejprve mikrovilózní a poté bazální membránu syncytiotrofoblastu,

projít přes extracelulární matrix a buňky cytotrofoblastu a vstoupit přes endotel fetálních kapilár do krve plodu<sup>112</sup>.

Většina především lipofilních látek o molekulové hmotnosti do cca 500 D prochází placentou prostřednictvím pasivní difúze. Pro zajištění všech placentárních funkcí se však na transportu živin, xenobiotik i jejich metabolitů podílí **transportní proteiny** exprimované na obou membránách syncytiotrofoblastu<sup>110, 113-115</sup>. Zprostředkovávají primárně transplacentární přestup živin, jako jsou cukry, aminokyseliny nebo nukleosidy, zároveň je řada z nich ale schopná transportovat celou řadu léčiv, toxinů a metabolitů endogenních i exogenních látek.

Tato habilitační práce se zaměřuje především na studium placentárních transportérů, které jsou schopné interagovat s léčivými a chránit plod před jejich potenciálně toxickým účinkem. S touto rolí jsou spojovány především P-gp, BCRP a MRP2 exprimované v mikrovilózní membráně syncytiotrofoblastu. Detailní přehled ohledně exprese a funkce i regulace P-gp, BCRP a dalších ABC i SLC transportérů v placentě je zpracován v přehledových studiích P2, P8, P9 a P14.

#### 4.2. Experimentální přístupy pro studium transportu látek přes placentu

Placenta představuje z pohledu možností studia své funkce poměrně jedinečný orgán, neboť **neexistuje etická možnost hodnocení** transplacentárního přestupu látek **přímo na těhotných ženách**. Jedinou možností klinického studia přestupu léčiv z matky do plodu zůstávají odběry mateřské a fetální krve po porodu a stanovení materno-fetálního poměru koncentrace léčiva. Tento přístup však odkazuje pouze na konečný stav materno-fetální distribuce a neumožňuje studium farmakokinetického profilu celého děje a jeho vývoj v průběhu těhotenství.

Detailněji je možno transplacentární farmakokinetiku studovat *in vivo/in situ* na zvířecích modelech, např. pomocí techniky **duální perfúze potkaní placenty**<sup>116, 117</sup>. Ve struktuře placenty nicméně existují poměrně značné mezidruhové rozdíly. Podle struktury tkáňové bariéry mezi mateřskou a fetální krví jsou placenty savců klasifikovány do tří základních typů: (i) hemochoriální (člověk, potkan, myš, králík); (ii) endoteliochoriální (kočka, pes) a (iii) epiteliochoriální (ovce, prase, kůň). Hemochoriální typ placenty, kdy je mateřská krev v přímém kontaktu s trofoblastem, se pak dále rozděluje podle počtu vrstev trofoblastu na hemomonochoriální (člověk), hemodichoriální (králík) a hemotrichoriální (potkan, myš)<sup>118</sup>. Při

vyhodnocení experimentálních dat získaných s použitím jednotlivých živočišných modelů je nutno brát v potaz mezidruhové rozdíly ve struktuře placent a jejich možný vliv na transplacentární farmakokinetiku ovlivňující extrapolaci dat ze zvířat na člověka.

Pro studium placentárních funkcí **u člověka** byla vyvinuta **řada alternativních metod**<sup>119, 120</sup> zahrnujících *in vitro* **perfundovaný placentární kotyledon**, *ex vivo* **vilózní placentární fragmenty a explanty** z placent po porodu<sup>43, 121</sup> nebo izolované **primární kultury trofoblastu** třetítrimestrálních, popř. prvotrimestrálních placent<sup>122, 123</sup>. Pro detailní studium transportních mechanismů přímo v **mikrovilózní nebo bazální plazmatické membráně** trofoblastu je možné využít **metodu izolace a vezikularizace** dané **membrány** a následně studium funkční exprese studovaného transportéru pomocí akumulčních studií<sup>124</sup>.

Kromě těchto technik využívajících přímo lidskou placentární tkáň po porodu jsou využívány i *in vitro* **buněčné linie** získané z **choriokarcinomu placenty**, nejčastěji BeWo, Jeg-3, nebo Jar<sup>125, 126</sup>. Přestože se v řadě vlastností od fyziologického trofoblastu liší, v některých ohledech si zachovávají charakteristiku placentární tkáně a jsou proto běžně používány pro studium placentárního transportu a metabolismu endogenních látek, např. transferinu, imunoglobulinu G, glukózy nebo nukleosidů, ale i léčiv<sup>127-133</sup>.

Přehled používaných modelů pro studium transportu léčiv přes placentu, jejich klady, zápory i relevantní odkazy shrnuje tabulka 2 v přehledové práci P14 následujícího souboru.

## II. Komentáře k předloženým pracím

Původní vědecké práce, které tvoří tento habilitační soubor, vznikly v letech 2002-2016 během mého postgraduálního studia a následného působení na Katedře farmakologie a toxikologie.

V rámci této práce byla hodnocena role membránových transportérů se zaměřením na dvě hlavní oblasti: (i) studium role membránových transportérů ve farmakokinetice léčiv a (ii) ovlivnění funkce ABC transportérů v rezistenci nádorových buněk.

Ad (i) První zkoumanou a v této práci prezentovanou oblastí je **studium role membránových transportérů ve farmakokinetice léčiv** orientované primárně na placentu a její transportní funkci. Hlavní obsah tvoří studium exprese a funkce ABC a vybraných SLC transportérů v placentě. V návaznosti na projekty Grantové agentury České republiky (P303-12-0850 a 13-31118P) i Grantové agentury Univerzity Karlovy (GAUK 1148213/C/2013 a GAUK 616216/C/2016) jsme se pak v posledních letech (2013-2016) věnovali především hodnocení transportéry zprostředkovaných farmakokinetických lékových interakcí antiretrovirálních léčiv, opět se zaměřením především na jejich vliv na přestup léčiv z matky do plodu.

Hlavními cíli přitom bylo:

- popsat expresi, lokalizaci a funkci P-gp, BCRP a následně i OCT a MATE transportérů v placentě, vyhodnotit změny exprese těchto transportérů v průběhu gestace
- studium mechanismů transportu antiretrovirálních léčiv přes placentu, hodnocení jejich interakce s lékovými transportéry P-gp, BCRP, MRP2, OCT a MATE
- ověřit s použitím *in vitro* a *in vivo* metod možnost vzniku farmakokinetických lékových interakcí antiretrovirotik predikovaných na základě výsledků našich předchozích studií

Ad (ii) Druhou samostatnou oblast našeho výzkumu tvoří studium **role ABC lékových transportérů v rezistenci nádorových buněk**. Hlavním cílem této výzkumné části je hodnocení nových látek charakteru inhibitorů cyklin-dependentních kináz (CDKI) a jejich schopnosti interakce s efluxními lékovými transportéry i role v překonání mnohočetné lékové rezistence nádorových buněk. Pro tuto linii výzkumu jsme získali dvojnásobnou podporu Grantové



agentury Univerzity Karlovy (GAUK 700912/C/2012 a GAUK 344315/C/2015) a následně též Grantové agentury České republiky (GACR 16-26849S).

Hlavními cíli této části výzkumu bylo:

- vyhodnotit roli ABC transportérů v možnosti vzniku rezistence nádorových buněk vůči platinovým cytostatikům a novým léčivům ze skupiny inhibitorů cyklin-dependentních kináz (CDKI)
- studovat CDKI z pohledu jejich potenciální role v modulaci ABC effluxních transportérů nádorových buněk a překonání MDR

## 1. Exprese a funkce ABC a vybraných SLC transportérů ve farmakokinetice

- P1. **Novotna M**, Libra A, Kopecky M, Pavek P, Fendrich Z, Semecky V and Staud F (2004) P-glycoprotein expression and distribution in the rat placenta during pregnancy. *Reprod Toxicol* **18**:785-792.
- P2. **Ceckova-Novotna M**, Pavek P and Staud F (2006) P-glycoprotein in the placenta: expression, localization, regulation and function. *Reprod Toxicol* **22**:400-410.
- P3. **Ceckova M**, Libra A, Pavek P, Nachtigal P, Brabec M, Fuchs R and Staud F (2006) Expression and functional activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2) transporter in the human choriocarcinoma cell line BeWo. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **33**:58-65.
- P4. Staud F, Vackova Z, Pospechova K, Pavek P, **Ceckova M**, Libra A, Cygalova L, Nachtigal P and Fendrich Z (2006) Expression and transport activity of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in dually perfused rat placenta and HRP-1 cell line. *J Pharmacol Exp Ther* **319**:53-62.
- P5. Cygalova L, **Ceckova M**, Pavek P and Staud F (2008) Role of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in fetal protection during gestation in rat. *Toxicol Lett* **178**:176-180.
- P6. Cygalova LH, Hofman J, **Ceckova M** and Staud F (2009) Transplacental pharmacokinetics of glyburide, rhodamine 123, and BODIPY FL prazosin: effect of drug efflux transporters and lipid solubility. *J Pharmacol Exp Ther* **331**:1118-1125.
- P7. Staud F, **Ceckova M**, Micuda S and Pavek P (2010) Expression and function of p-glycoprotein in normal tissues: effect on pharmacokinetics. *Methods Mol Biol* **596**:199-222.
- P8. Hahnova-Cygalova L, **Ceckova M** and Staud F (2011) Fetoprotective activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2): expression and function throughout pregnancy. *Drug Metab Rev* **43**:53-68.
- P9. Staud F, Cerveny L and **Ceckova M** (2012) Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure. *J Drug Target* **20**:736-763.
- P10. Ahmadimoghaddam D, Hofman J, Zemankova L, Nachtigal P, Dolezelova E, Cerveny L, **Ceckova M**, Micuda S and Staud F (2012) Synchronized activity of organic cation transporter 3 (Oct3/Slc22a3) and multidrug and toxin extrusion 1 (Mate1/Slc47a1) transporter in transplacental passage of MPP+ in rat. *Toxicol Sci* **128**:471-481.

- P11. Ahmadimoghaddam D, Zemankova L, Nachtigal P, Dolezelova E, Neumanova Z, Cerveny L, **Ceckova M**, Kacerovsky M, Micuda S and Staud F (2013) Organic cation transporter 3 (OCT3/SLC22A3) and multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter in the placenta and fetal tissues: expression profile and fetus protective role at different stages of gestation. *Biol Reprod* **88**:55.
- P12. Staud F, Cerveny L, Ahmadimoghaddam D and **Ceckova M** (2013) Multidrug and toxin extrusion proteins (MATE/SLC47); role in pharmacokinetics. *Int J Biochem Cell Biol* **45**:2007-2011
- P13. Neumanova Z, Cerveny L, **Ceckova M** and Staud F (2014) Interactions of tenofovir and tenofovir disoproxil fumarate with drug efflux transporters ABCB1, ABCG2, and ABCC2; role in transport across the placenta. *AIDS* **28**:9-17.
- P14. Staud F and **Ceckova M** (2015) Regulation of drug transporter expression and function in the placenta. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* **11**:533-555.
- P15. Neumanova Z, Cerveny L, Greenwood SL, **Ceckova M** and Staud F (2015) Effect of drug efflux transporters on placental transport of antiretroviral agent abacavir. *Reprod Toxicol* **57**:176-182.
- P16. Reznicek J, **Ceckova M**, Cerveny L, Muller F and Staud F (2016) Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters. *Xenobiotica*:1-9.
- P17. Neumanova Z, Cerveny L, **Ceckova M** and Staud F (2016) Role of ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC5 transporters in placental passage of zidovudine. *Biopharm Drug Dispos* **37**:28-38.
- P18. Reznicek J, **Ceckova M**, Tupova L and Staud F (2016) Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate. *Placenta* **47**:124-129.
- P19. **Ceckova M**, Reznicek J, Ptackova Z, Cerveny L, Muller F, Kacerovsky M, Fromm MF, Glazier JD and Staud F (2016) Role of ABC and Solute Carrier Transporters in the Placental Transport of Lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother* **60**:5563-5572.

Práce v oponentním řízení (Doplněk 1)

- PD1. Reznicek J., **Ceckova M.**, Ptackova Z., Martinec O., Tupova L., Cerveny L., Staud F. (2017) MDR1 and BCRP transporter-mediated drug-drug interaction between rilpivirine and abacavir; effect on intestinal absorption in rats. *Pharmacological Research*, submitted

---

V rámci této oblasti vědeckého studia jsme se zabývali nejprve hodnocením exprese a funkce P-glykoproteinu (P-gp) v placentě. V návaznosti na první publikované práce zmiňující přítomnost tohoto transportéru v placentě a jeho předpokládanou ochrannou funkci pro plod<sup>134-137</sup>, jsme studovali expresi tohoto transportéru na mRNA i proteinové úrovni v placentě v průběhu březosti potkana (**P1**). Získaná data prokazují expresi obou P-gp-kódujících genů, *Abcb1a* i *Abcb1b* v chorioallantoické placentě potkana již od 11. gestačního dne, kdy je placenta považována za vyvinutou. Expese obou genů pak v průběhu březosti rostla, s maximem v 19. gestačním dni pro *Abcb1a*, resp. v 22. dni pro *Abcb1b*. Oproti tomu na proteinové úrovni jsme pozorovali výrazně vyšší variabilitu bez jasné tendence k vzestupu či

poklesu exprese P-gp v průběhu gestace. Imunohistochemicky jsme byli schopni detekovat P-gp od 13. dne gestace, a to ve vyvíjející se labyrintové zóně. Na konci březosti již byl P-gp detekován jako kontinuální linie ve vrstvě syncytiotrofoblastu. Poznatky získané v této studii byly zapracovány do přehledové práce shrnující dosavadní znalosti o expresi, funkci a roli P-glykoproteinu v placentě (**P2**). Následně jsme se tématu P-gp a jeho funkci v normálních tkáních i roli ve farmakokinetice věnovali i v přehledové kapitole zahraniční monografie (**P7**). Náš další výzkum s placentárním zaměřením reflektoval nejnovější poznatky ohledně BCRP jako dalšího placentárního ABC transportéru s pravděpodobnou rolí v ochraně plodu<sup>138, 139</sup>. V práci (**P3**) jsme se zaměřili na porovnání exprese BCRP a P-gp v lidské placentě a potvrdili expresi i funkci BCRP v lidské buněčné linii BeWo jako jednom z nejpoužívanějších placentárních *in vitro* modelů. S ohledem na vysokou placentární expresi BCRP převyšující na mRNA úrovni i expresi *ABCB1* genu kódujícího P-gp, jsme se BCRP v placentě věnovali i v další studii (**P4**) a potvrdili funkční aktivitu *Bcrp* *in vivo* s využitím duální perfuze potkaní placenty. Tato práce prokázala aktivní transport BCRP substrátů ve feto-maternálním směru, a tím pravděpodobný vliv BCRP transportéru na snížení expozice plodu látkám přítomným v oběhu matky. Navíc jsme popsali i expresi *Bcrp* v potkaní placentární buněčné linii HRP-1, analogicky lidským BeWo buňkám charakterizovaným v předchozí práci P3 jsme i u této linie odhalili vysokou expresi i funkční aktivitu *Bcrp*, ale nulovou expresi genů kódujících P-gp. Jak BeWo tak HRP-1 buněčné linie tak mohou sloužit jako vhodný model studia interakce látek s placentárním BCRP transportérem, pro hodnocení interakce s placentárním P-gp jsou však nevhodné.

Následující práce pak hodnotila vliv stádia gestace na expresi *Bcrp* v placentě potkana, kterou zároveň korelovala s mírou expozice plodu modelovému *Bcrp* substrátu cimetidinu aplikovanému do krve matky (**P5**). Výsledky této studie prokazují maximum exprese *Bcrp* na mRNA úrovni v 15. den gestace následovaný poklesem na zhruba třetinovou hladinu *Bcrp* transkriptů v poslední den březosti. Přitom od 15. gestačního dne významně rostla exprese *Bcrp* v orgánech plodu. Přestup cimetidinu z matky do plodu byl nejvyšší v časných stádiích, kolem 12. dne gestace a s průběhem březosti klesal. V 18. a 21. den gestace byly pozorovány i nižší hladiny cimetidinu v mozku plodu, což koreluje se zvyšující se expresí *Bcrp* ve fetální tkáni v průběhu březosti. Tato data tak naznačují, že s postupujícím vývojem plodu v průběhu březosti je tento chráněn před potenciálně toxickými látkami nejen placentárním *Bcrp*, ale též

stoupající exprese Bcrp ve fetálních orgánech. Práce **P6** poukazuje na závislost míry vlivu P-gp i BCRP na transplacentární přestup modelových substrátů v závislosti na jejich lipofilitě, přičemž role ABC transportérů v transplacentární kinetice klesá se zvyšující se lipofilitou přenášené látky. Výsledky získané ze studií P2-P6 jsme následně zpracovali do přehledového článku sumarizujícího aktuální znalost ohledně exprese BCRP v placentě a role tohoto transportéru ve farmakokinetice a ochraně plodu před potenciálně toxickými látkami (**P8**). V následně vydané revizní práci (**P9**) jsme pak zahrnuli kromě BCRP i všechny další známé placentární ABC i SLC transportéry a sumarizovali aktuální znalost ohledně jejich exprese a role v transplacentární farmakokinetice.

V další experimentální práci jsme se začali věnovat MATE1 jako relativně nedávno (v r. 2006) objevenému SLC transportéru. Nejprve jsme popsali jeho expresi, lokalizaci i funkci v potkaní placentě a roli OCT3- a MATE1-mediovaného vektoriálního transportu organických kationtů ve směru z plodu do matky (**P10**), a dále navrhli vliv tohoto synchronizovaného transportu pro ochranu plodu, především v pozdějších fázích gestace/těhotenství (**P11**). MATE transportéry a jejich roli ve farmakokinetice se zabývá i naše další revizní práce (**P12**). Regulaci exprese i funkce placentárních lékových transportérů v placentě se pak věnuje přehledová studie **P14**.

Od roku 2013 jsme se s výše zmíněnou grantovou podporou začali zabývat studiem antiretrovirálních léčiv a především pak jejich interakcemi s lékovými transportéry. S ohledem na nezbytnost současného podávání dvou a více těchto látek najednou v rámci kombinované antiretrovirální terapie (cART) je u této terapeutické skupiny zvýšená pravděpodobnost lékových interakcí (LI). Farmakokinetické LI na úrovni lékových transportérů přitom představují riziko navození pozměněných plazmatických hladin a tkáňových koncentrací těchto léčiv, a tím selhání terapie nebo zvýšení její toxicity. Pro řadu běžně užívaných antiretrovirotik přitom znalost jejich interakcí s lékovými transportéry nebyla v době zahájení tohoto výzkumu ani zdaleka kompletní, navíc LI na placentárních transportérech s rizikem ovlivnění lékové expozice plodu nebyly studované ani pro léčiva první volby v prevenci přenosu HIV z matky na plod. Naše pilotní práce této části výzkumu představují studium role ABC transportérů P-gp, BCRP a MRP2 v omezení přestupu NRTI tenofovir disoproxil fumarátu (TDF) (**P13**), abakaviru (**P15**) a zidovudinu (**P17**) z matky do plodu. Zatímco žádné ze studovaných antiretrovirotik neprokázalo substrátovou afinitu k MRP2, všechny tři látky byly

identifikovány jako substráty placentárního P-gp i BCRP. Role obou transportérů v omezení přestupu TDF z mateřské do fetální cirkulace byla jednoznačně potvrzena pomocí duální perfúze potkaní placenty, a to jak v otevřeném, tak v uzavřeném uspořádání (P13). Oproti tomu P-gp- a BCRP-mediovaný transport abakaviru byl pozorován jen při uzavřeném uspořádání, kdy byla placenta z obou stran perfundována roztokem léčiva o stejné koncentraci. Vliv P-gp ani BCRP na přestup abakaviru přes placentu nebyl potvrzen ani při použití techniky akumulace léčiva do vilózních fragmentů lidských placent. Uvedená data naznačují, že by abakavir mohl být transportován v placentě i jiným, ekvilibrativním transportérem, který by oslaboval vliv efluxu abakaviru ABC transportéry. Tuto teorii potvrzují i naše dosud nepublikovaná data odhalující transport abakaviru prostřednictvím nukleosidových transportérů.

Ve studii navazující na práce P13 a P15 jsme pak prokázali inhibiční vliv novějšího NNRTI etravirinu na transport TDF pomocí placentárního BCRP, a tím vyšší přestup TDF do plodu (**P18**). Konzistentně s předchozími výsledky jsme nepozorovali žádný vliv etravirinu na transplacentární přestup abakaviru, přestože *in vitro* studie na polarizovaných MDCKII buňkách exprimujících lidský P-gp a BCRP, tuto interakci odhalují. Farmakokinetickou interakci léčiv na úrovni ABC transportérů, konkrétně P-gp a BCRP, jsme ale odhalili mezi abakavirem a dalším antiretrovirotikem z nové generace NNRTI, rilpivirinem (**PD1**). Inhibice P-gp a BCRP transportérů rilpivirinem v této studii významně zvýšila přestup abakaviru přes monovrstvu Caco-2 střevních buněk *in vitro* a zároveň vedla k nárůstu AUC abakaviru po intraduodenálním podání *in vivo* u potkanů.

Kromě interakce léčiv s ABC transportéry jsme zároveň studovali i afinitu vybraných antiretrovirálních látek k SLC transportním proteinům ze skupin OCT a MATE. Jako první jsme tak popsali NRTI emtricitabin jako substrát MATE1 transportéru (**P16**), což naznačuje, že by MATE1 mohl být transportérem zodpovědným za aktivní tubulární exkreci tohoto antiretrovirotika do moče. Aktivní tubulární exkrece emtricitabinu v ledvinách byla na základě výsledků klinických studií předpokládána, její mechanismus ale nebyl do té doby detailněji vysvětlen. V naší práci jsme opět využili transportní studie na polarizovaných MDCKII buňkách stabilně transfekovaných pro expresi SLC a ABC transportérů, a prokázali, že emtricitabin není transportován P-gp, BCRP ani MRP2. Na přestup přes buněčnou vrstvu a akumulaci v ní neměly

vliv ani OCT1 či OCT2. Naše studie je tak první, která prokazuje transport emtricitabinu pomocí MATE1 a navrhuje roli tohoto transportéru v exkreci emtricitabinu do moče.

Transport dalšího z NRTI, lamivudinu, pomocí MATE1 popisuje práce **P19**. MATE1-mediovaný eflux jsme charakterizovali v MDCK-MATE1 buňkách jako nízkoafinitní proces s  $K_m=4,21$  mM a  $V_{max}=5,18$  nmol/mg protein/min. P-gp, BCRP ani MRP2 přitom transport lamivudinu přes placentu ani relevantní ABC transportéry exprimující MDCK buněčnou monovrstvu neovlivnily. Při vychytávání lamivudinu do membránových vezikulů tvořených izolovanou mikrovilózní membránou trofoblastu lidských placent jsme pozorovali zjevnou závislost míry akumulace lamivudinu uvnitř membránových vezikulů na pH na obou stranách membrány. Nicméně přes zjevnou expresi Mate v placentární tkáni u potkana (P10, P11) je exprese MATE transportérů v lidské placentě zanedbatelná. Vektoriální OCT a MATE transportéry zprostředkovaný transport lamivudinu přes OCT1/OCT2- a MATE1-exprimující polarizované MDCK buňky je nezpochybnitelný, na základě našich výsledků je možné konstatovat, že role MATE v transplacentární farmakokinetice lamivudinu je pravděpodobně minimální. Klinicky relevantní interakce lamivudinu s MATE se zdá mnohem pravděpodobnější na úrovni aktivní renální exkrece lamivudinu. Naše poslední studie popisuje vysokou inhibiční schopnost antiretrovirotika efavirenzu vůči MATE1 a snížení renální exkrece lamivudinu *in vivo* u potkanů v případě podání této kombinace antiretrovirotik (data připravovaná k publikaci).

## 2. ABC transportéry v mnohočetné lékové rezistenci, interakce s inhibitory cyklin-dependentních kináz

- P20. **Ceckova M**, Vackova Z, Radilova H, Libra A, Buncek M and Staud F (2008) Effect of ABCG2 on cytotoxicity of platinum drugs: interference of EGFP. *Toxicol In Vitro* **22**:1846-1852.
- P21. Hofman J, Ahmadimoghaddam D, Hahnova L, Pavek P, **Ceckova M** and Staud F (2012) Olomoucine II and purvalanol A inhibit ABCG2 transporter in vitro and in situ and synergistically potentiate cytostatic effect of mitoxantrone. *Pharmacol Res* **65**:312-319.
- P22. Hofman J, Kucera R, Cihalova D, Klimes J, **Ceckova M** and Staud F (2013) Olomoucine II, but not purvalanol A, is transported by breast cancer resistance protein (ABCG2) and P-glycoprotein (ABCB1). *PLoS One* **8**:e75520.
- P23. Cihalova D, Hofman J, **Ceckova M** and Staud F (2013) Purvalanol A, olomoucine II and roscovitine inhibit ABCB1 transporter and synergistically potentiate cytotoxic effects of daunorubicin in vitro. *PLoS One* **8**:e83467.

- P24. Cihalova D, **Ceckova M**, Kucera R, Klimes J and Staud F (2015) Dinaciclib, a cyclin-dependent kinase inhibitor, is a substrate of human ABCB1 and ABCG2 and an inhibitor of human ABCC1 in vitro. *Biochem Pharmacol* **98**:465-472.
- P25. Cihalova D, Staud F and **Ceckova M** (2015) Interactions of cyclin-dependent kinase inhibitors AT-7519, flavopiridol and SNS-032 with ABCB1, ABCG2 and ABCC1 transporters and their potential to overcome multidrug resistance in vitro. *Cancer Chemother Pharmacol* **76**:105-116.

Práce v oponentním řízení (Doplněk 2)

- PD2. Cihalova D, **Ceckova M**, Sorf A and Staud F. Palbociclib (PD 0332991) inhibits human transporters ABCB1 and ABCG2 in vitro. *BMC Cancer*, submitted

---

V rámci výše uvedených prací jsme se v druhé linii našeho výzkumu zaměřili na ABC lékové transportéry z pohledu jejich role v MDR. V první práci na toto téma jsme řešili, zda BCRP transportér může představovat mechanismus vzniku rezistence buněk na platinová cytostatika cisplatinu, karboplatinu a oxaliplatinu (**P20**). Využili jsme v této oblasti výzkumu často používané cytotoxicitní studie na buněčných liniích transfekovaných či transdukovaných pro zvýšenou expresi efluxních transportérů. Výsledky této studie prokázaly významně vyšší hodnotu cytotoxicitní  $IC_{50}$  u cisplatinu, oxaliplatinu i karboplatiny na BCRP exprimujících MDCKII buňkách oproti buňkám parentním, což by mohlo naznačovat, že jsou všechna tři platinová cytostatika substráty BCRP a vzniká na ně prostřednictvím tohoto transportéru buněčná rezistence. V druhé části této práce jsme však prokázali, že za pozorovaný posun v rezistenci není zodpovědný BCRP transportér, ale zelený fluorescenční protein (EGFP) exprimovaný v použitých MDCKII-BCRP buňkách jako marker pozitivní transdukce plazmidem nesoucím *ABCG2* gen. Nižší pohotovost EGFP exprimujících buněk k apoptóze jsme pak potvrdili i pomocí kaspázové 3/7 studie na Hep2 buňkách též exprimujících EGFP. Tato práce tak varuje před použitím EGFP exprimujících buněk v hodnocení apoptózy a cytotoxicity protinádorových látek, neboť by mohlo vést k falešným závěrům.

Následně jsme se začali MDR linii výzkumu věnovat hodnocení nových látek charakteru inhibitorů cyklin-dependentních kináz (CDKI), což je nová skupina látek v protinádorové terapii. Tato léčiva, inhibují serin/treoninové kinázy regulující buněčný cyklus a ovlivňují tak buněčnou proliferaci. Zvýšená aktivita těchto enzymů byla prokázána při vývoji nádorových onemocnění, a proto byly cyklin-dependentní kinázy vybrány jako nový racionální cíl protinádorové terapie. V této linii výzkumu jsme se zaměřili na hodnocení těchto nových léčiv

z pohledu jejich schopnosti interakce s efluxními lékovými transportéry. Motivace ke studiu těchto látek vyšla z pilotních výsledků kvantitativní analýzy vztahu mezi strukturou a BCRP-inhibující aktivitou u CDKI první generace, olomoucínu, boheminu, roskovitinu (osobní komunikace s Dr. Ran An, Tokyo Institute of Technology, práce později publikována ve *Pharmaceutical Research*<sup>140</sup>). Kvantitativní analýza vztahu struktura-aktivita (QSAR) uskutečněná tímto vědeckým týmem vyhodnotila důležitost určitých substituentů navázaných na heterocyklickou strukturu pro interakci s BCRP transportním proteinem. Řada inhibitorů proteinových kináz, včetně první generace CDKI, přitom tyto strukturální podmínky splňuje. Proto jsme se v naší první práci na téma MDR (**P21**) zaměřili právě na tyto látky s cílem funkčně ověřit možnost jejich interakce s BCRP. Všechny testované CDKI, purvalanol A, olomoucín II, roskovitin i bohemín prokázaly schopnost zvýšit akumulaci BCRP substrátů Hoechst33342 a glyburidu v MDCKII-BCRP buňkách, což potvrzuje jejich inhibiční aktivitu vůči BCRP. Tento efekt byl potvrzen i na placentě, kde tyto látky zvýšily přestup glyburidu z matky do plodu, pravděpodobně inhibicí efluxu zprostředkovaného BCRP. Navíc dva nejsilnější inhibitory, purvalanol A a olomoucín II, byly schopné potencovat cytostatický efekt mitoxantronu v BCRP exprimujících nádorových liniích BeWo, HepG2 a HRP-1.

Následující práce pak hodnotila purvalanol A i olomoucín II i z pohledu jejich substrátové afinity k BCRP a P-gp (**P22**). Překvapivě, ač se jedná o látky velmi blízké struktury, se jejich schopnost přecházet přes membrány prostřednictvím těchto transportérů značně liší. Zatímco olomoucín II byl v transportních studiích na ABC transportéry-exprimujících MDCKII buňkách odhalen jako substrát jak P-gp, tak BCRP, transport purvalanolu A nebyl ovlivněn ani jedním z těchto transportérů. Z pohledu možné rezistence na tyto potenciální protinádorové látky se jeví purvalanol A jako výhodnější, bez rizika jeho aktivního efluxu z nádorových buněk a potenciálního navození farmakokinetických interakcí při podání s jinými léčivy. Studie **P23** též navazovala na práci P21, testovali jsme v ní schopnost purvalanolu A, olomoucínu II, roskovitinu a dále flavopiridolu a SNS-032 inhibovat P-gp. Všechny hodnocené látky prokázaly schopnost inhibice efluxu P-gp substrátů ven z buněk, nejsilnější inhibici přitom navodil olomoucín II následovaný roskovitinem. Obě látky interagovaly též ATP-ázových studiích, kde prokázaly schopnost nejen snížit aktivitu stimulované ATPázy (což je obecná vlastnost léčiv interagujících s tímto ABC transportérem, ať už ve smyslu jeho substrátu či inhibitoru), ale i (typicky pro substráty) zvýšit bazální ATPázovou aktivitu. Purvalanol A, olomoucín II i



roskovitin pak prokázaly schopnost i synergisticky potencovat antiproliferativní účinek cytostatika daunorubicinu v lidských nádorových liniích HCT-8 a HepG2.

Ve studiích **P24**, **P25** a **PD2** jsme se zaměřili na CDKI v probíhajícím klinickém hodnocení léčiv. Práce **P24** se zabývala dinaciklibem, CDKI, u něhož v době započetí našich experimentů probíhala 3. fáze klinického zkoušení a byl považován za jeden z nejnadějnějších CDKI co do možnosti brzké registrace. V klinických studiích prokazoval dinaciklib významnou aktivitou proti různým typům nádorových onemocnění *in vitro* a *in vivo*. Cílem této práce bylo vyhodnotit rizika spojená s podáváním dinaciklibu, z pohledu jeho možného efektu na efluxní aktivitu P-gp, BCRP a MRP1. Naše výsledky z transportních studií na monovrstvách MDCK buněk ukazují, že dinaciklib je transportovaným substrátem P-gp i BCRP. Navíc, zvýšená exprese P-gp, BCRP a MRP1 zvyšovala rezistenci vůči dinaciklibu v MDCKII buňkách. Interakce tohoto CDKI se všemi studovanými transportéry byla potvrzena v ATPázových studiích. Dinaciklib také signifikantně inhiboval eflux daunorubicinu zprostředkovaný MRP1 což vedlo k synergickému efektu dinaciklibu v kombinaci s dalšími protinádorovými látkami při aplikaci v buňkách MDCKII-ABCC1 i lidské nádorové buněčné linii T47D.

Práce **P25** studovala interakce CDKI AT-7519, flavopiridolu a SNS-032 s ABC transportéry a zkompletovala tak naši znalost o interakčním profilu těchto látek s transportéry ABCB1, ABCG2 i ABCC1. Flavopiridol signifikantně inhiboval BCRP i MRP1. Látka SNS-032 snižovala efluxní aktivitu BCRP, zatímco AT-7519 nevykazoval inhibiční aktivitu vůči žádnému transportéru. Jak flavopiridol, tak SNS-032 docílily v nádorových buňkách synergického antiproliferativního efektu v kombinaci s relevantními substráty ABC transportérů, jakými jsou např. daunorubicin a topotekan. Zjistili jsme také, že ABCB1 způsobuje rezistenci vůči AT-7519 a SNS-032. Na druhou stranu transportéry ABCG2 a ABCC1 mohou být zodpovědné za vznik rezistence vůči flavopiridolu.

Zatím poslední práce na toto téma **PD2**, jež je v současné době v recenzním řízení, se zabývala palbociclibem, prvním CDKI, jež byl v roce 2016 schválen pro použití v klinické terapii. Jeho indikací jsou pokročilé prsní nádory, tomu byly přizpůsobeny i buněčné modely, na kterých jsme tuto látku a její interakce s ABC transportéry hodnotili. Výsledky této práce jednoznačně potvrzují inhibici P-gp a BCRP palbociclibem a synergismus v antiproliferativním působení při kombinaci s cytotoxickými substráty daunorubicinem a mitoxantronem. Potenciace

antiproliferativního účinku byla potvrzena i v prsních nádorových liniích MCF-7 a MDA-MB-231 exprimujících BCRP, zatímco kombinace palbociclibu s konvenčními cytostatiky na linii T-47D s téměř nedetekovatelnou expresí P-gp a BCRP k synergismu nevedla.

### III. Stručný souhrn, závěry a perspektivy

Lékové membránové transportéry hrají důležitou roli ve farmakokinetice léčiv a jsou potenciálním místem lékových interakcí. Tato habilitační práce prezentuje soubor vědeckých publikací zabývajících se expresí a funkcí transportních proteinů a možnými transportéry-zprostředkovanými farmakokinetickými lékovými interakcemi. Detailněji jsme se zaměřili na dvě základní oblasti: (1) transportní proteiny v placentě a farmakokinetické interakce, především antiretrovirálních léčiv a (2) roli ATP-dependentních transportérů v mnohočetné lékové rezistenci a jejich interakci s inhibitory cyklin-dependentních kináz.

Výsledky našich dosavadních studií prokazují významnou funkční aktivitu a expresi P-gp i BCRP v placentě a schopnost řady antiretrovirálních léčiv s těmito transportéry interagovat. TDF, abakavir i zidovudin byly popsány jako substráty placentárních ABC transportérů P-gp a BCRP, což může vést k lékovým interakcím v případě jejich inhibice jiným léčivem. Tuto interakci, jež vede ke zvýšení plazmatických hladin ABC transportérového substrátu na straně plodu, jsme popsali pro etravirin, NNRTI nové generace. Podobně rilpivirin, další relativně nedávno registrované antiretrovirotikum prokázal inhibici P-gp a BCRP, a tím i zvýšenou absorpci abakaviru *in vitro* a *in vivo* po intraduodenálním podání u potkana. U antiretrovirotik emtricitabinu a lamivudinu jsme jejich transport pomocí placentárních transportérů P-gp, BCRP nebo MRP2 neprokázali, obě látky jsme ale odhalili jako substráty MATE1 efluxního transportéru. Interakce na MATE1 pravděpodobně neovlivní transplacentární farmakokinetiku těchto NRTI, ale mohla by se podílet na interakci lamivudinu a emtricitabinu na úrovni ledvinné exkrece obou látek. Význam námi popsaných interakcí antiretrovirálních látek bude ještě nutné ověřit v klinické praxi, nicméně věříme, že získané informace pomohou k optimalizaci a zajištění bezpečnosti farmakoterapie, především cART, a to nejen v těhotenství.

V druhé linii našeho výzkumu jsme prokázali schopnost nových látek nadějných pro terapii nádorových onemocnění, CDKI, interagovat s ABC transportéry. Řada potenciálních léčiv této skupiny, např. palbociclib, purvalanol, flavopiridol, olomoucín II a roskovitin vykazuje schopnost inhibice P-gp a/nebo BCRP a potenciace antiproliferativního účinku při podání s konvenčními cytostatiky. Z tohoto pohledu se uvedená léčiva jeví jako látky s duálním

mechanismem účinku v protinádorové terapii. Kromě svého efektu na cyklin-dependentní kinázy a tím na buněčný cyklus nádorové buňky, se tyto látky jeví jako modulátory MDR schopné výhodně potencovat účinnost terapie při podání v kombinaci s cytotoxickými léčivými substráty ABC transportérů. Této vlastnosti by mohlo být výhodně využito v protinádorové terapii a např. u palbociclibu, již schváleného CDKI, by na základě této znalosti mohly být optimalizovány odpovídající palbociclib zahrnující terapeutické režimy. Problematika MDR nádorových buněk je nicméně zjevně složitější, nejnovější práce hovoří o ABC transportérech v nádorových buňkách i jako o markerech buněčné proliferace a diferenciaci<sup>39</sup>. Právě tato teorie by favorizovala použití CDKI jako modulátorů MDR, a to především u hematologických malignit s větší frakcí kmenových, P-gp- a BCRP- exprimujících buněk. Naše pilotní hodnocení proapoptické aktivity palbociclibu u mononukleárních leukocytů izolovaných ze vzorků pacientů s akutní myeloidní leukémií tento mechanismus potvrzují.

Pochopení mechanismů transportu exogenních i endogenních látek přes placentu je klíčové pro odhad transplacentární farmakokinetiky i expozice plodu terapeutickým i endogenním látkám. Tento imperativ vznesla v nedávné době i EMA a podpořila tak využití a rozvoj experimentálních modelů pro studium placentárních funkcí a role placenty v transportu léčiv z matky do plodu. V souvislosti s transportéry a jejich rolí ve farmakokinetice jsou čím dál častěji skloňovány genové polymorfizmy a jejich vliv na funkční aktivitu transportérů. Klíčovým tématem je i možná regulace exprese transportních proteinů, a to jak na transkripční, tak epigenetické úrovni. Ohledně interakce léčiv s transportéry se do popředí dostává také problematika cíleného ovlivnění funkce především SLC transportérů<sup>141, 12, 142</sup>. Jejich vhodnou terapeutickou modulací by mohl být ovlivněn přenos řady endogenních substrátů a zajištění tělesné homeostázy, což v případě SLC transportérů v placentě mít vhodný dopad i na ovlivnění vývoje plodu.

Endogenní funkce transportérů v buněčné biologii a transportérová genomika byly také hlavními tématy třetího workshopu ITC, který se uskutečnil na jaře letošního roku a jehož zásadní výstupy ovlivní další směřování v této oblasti výzkumu.

## IV. Podíl předkladatelky práce na jednotlivých publikacích

P1. **Novotna M**, Libra A, Kopecky M, Pavek P, Fendrich Z, Semecky V and Staud F (2004) P-glycoprotein expression and distribution in the rat placenta during pregnancy. *Reprod Toxicol* 18:785-792, IF<sub>2003</sub> = 1.868

**První autorka; provedení experimentální práce, vyhodnocení dat, sepsání publikace**

P2. **Ceckova-Novotna M**, Pavek P and Staud F (2006) P-glycoprotein in the placenta: expression, localization, regulation and function. *Reprod Toxicol* 22:400-410, IF<sub>2005</sub> = 1.636

**První autorka; literární rešerše, sepsání publikace (review)**

P3. **Ceckova M**, Libra A, Pavek P, Nachtigal P, Brabec M, Fuchs R and Staud F (2006) Expression and functional activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2) transporter in the human choriocarcinoma cell line BeWo. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 33:58-65, IF<sub>2005</sub> = 1.437

**První autorka; provedení experimentální práce, vyhodnocení dat, sepsání publikace**

P4. Staud F, Vackova Z, Pospechova K, Pavek P, **Ceckova M**, Libra A, Cygalova L, Nachtigal P and Fendrich Z (2006) Expression and transport activity of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in dually perfused rat placenta and HRP-1 cell line. *J Pharmacol Exp Ther* 319:53-62, IF<sub>2005</sub> = 4.098

**Podíl na experimentální práci a vyhodnocení dat, revize manuskriptu**

P5. Cygalova L, **Ceckova M**, Pavek P and Staud F (2008) Role of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in fetal protection during gestation in rat. *Toxicol Lett* 178:176-180, IF<sub>2007</sub> = 2.826

**Podíl na experimentální práci a vyhodnocení dat, revize manuskriptu**

P6. Cygalova LH, Hofman J, **Ceckova M** and Staud F (2009) Transplacental pharmacokinetics of glyburide, rhodamine 123, and BODIPY FL prazosin: effect of drug efflux transporters and lipid solubility. *J Pharmacol Exp Ther* 331:1118-1125, IF<sub>2008</sub> = 4.309

**Podíl na experimentální práci a vyhodnocení dat, revize manuskriptu**

P7. Staud F, **Ceckova M**, Micuda S and Pavek P (2010) Expression and function of p-glycoprotein in normal tissues: effect on pharmacokinetics. *Methods Mol Biol* 596:199-222.

**Literární rešerše, podíl na sepsání publikace (review)**

P8. Hahnova-Cygalova L, **Ceckova M** and Staud F (2011) Fetoprotective activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2): expression and function throughout pregnancy. *Drug Metab Rev* 43:53-68, IF<sub>2010</sub> = 6.263

**Literární rešerše, podíl na sepsání publikace (review)**

P9. Staud F, Cerveny L and **Ceckova M** (2012) Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure. *J Drug Target* 20:736-763, IF<sub>2011</sub> = 2.696

#### **Literární rešerše, podíl na sepsání publikace (review)**

- P10. Ahmadimoghaddam D, Hofman J, Zemankova L, Nachtigal P, Dolezelova E, Cerveny L, **Ceckova M**, Micuda S and Staud F (2012) Synchronized activity of organic cation transporter 3 (Oct3/Slc22a3) and multidrug and toxin extrusion 1 (Mate1/Slc47a1) transporter in transplacental passage of MPP+ in rat. *Toxicol Sci* 128:471-481, IF<sub>2011</sub> = 4.652

#### **Podíl na vyhodnocení dat, revize manuskriptu**

- P11. Ahmadimoghaddam D, Zemankova L, Nachtigal P, Dolezelova E, Neumanova Z, Cerveny L, **Ceckova M**, Kacerovsky M, Micuda S and Staud F (2013) Organic cation transporter 3 (OCT3/SLC22A3) and multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter in the placenta and fetal tissues: expression profile and fetus protective role at different stages of gestation. *Biol Reprod* 88:55. IF<sub>2012</sub> = 4.027

#### **Podíl na experimentální práci, revize manuskriptu**

- P12. Staud F, Cerveny L, Ahmadimoghaddam D and **Ceckova M** (2013) Multidrug and toxin extrusion proteins (MATE/SLC47); role in pharmacokinetics. *Int J Biochem Cell Biol* 45:2007-2011, IF<sub>2012</sub> = 4.152

#### **Literární rešerše, podíl sepsání publikace (review)**

- P13. Neumanova Z, Cerveny L, **Ceckova M** and Staud F (2014) Interactions of tenofovir and tenofovir disoproxil fumarate with drug efflux transporters ABCB1, ABCG2, and ABCC2; role in transport across the placenta. *AIDS* 28:9-17, IF<sub>2013</sub> = 6.557

#### **Podíl na experimentální práci a vyhodnocení dat, revize manuskriptu**

- P14. Staud F and **Ceckova M** (2015) Regulation of drug transporter expression and function in the placenta. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 11:533-555, IF<sub>2014</sub> = 2.831

#### **Literární rešerše, podíl sepsání publikace (review)**

- P15. Neumanova Z, Cerveny L, Greenwood SL, **Ceckova M** and Staud F (2015) Effect of drug efflux transporters on placental transport of antiretroviral agent abacavir. *Reprod Toxicol* 57:176-182, IF<sub>2014</sub> = 3.227

#### **Podíl na experimentální práci a vyhodnocení dat, revize manuskriptu**

- P16. Reznicek J, **Ceckova M**, Cerveny L, Muller F and Staud F (2016) Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters. *Xenobiotica*:1-9, IF<sub>2015</sub> = 1.723

#### **Školitel specialista prvního autora; design studie, vyhodnocení dat, podíl na sepsání publikace**

- P17. Neumanova Z, Cerveny L, **Ceckova M** and Staud F (2016) Role of ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC5 transporters in placental passage of zidovudine. *Biopharm Drug Dispos* 37:28-38, IF<sub>2015</sub> = 2.457

#### **Podíl na experimentální práci, revize textu manuskriptu**

- P18. Reznicek J, **Ceckova M**, Tupova L and Staud F (2016) Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate. *Placenta* 47:124-129, IF<sub>2015</sub> = 2.972

**Školitel specialista prvního autora; design studie, vyhodnocení dat, podíl na sepsání publikace**

- P19. **Ceckova M**, Reznicek J, Ptackova Z, Cerveny L, Muller F, Kacerovsky M, Fromm MF, Glazier JD and Staud F (2016) Role of ABC and Solute Carrier Transporters in the Placental Transport of Lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother* 60:5563-5572, IF<sub>2015</sub> = 4.415

**První autorka; podíl na experimentální práci, design studie, vyhodnocení dat, sepsání publikace**

- P20. **Ceckova M**, Vackova Z, Radilova H, Libra A, Buncek M and Staud F (2008) Effect of ABCG2 on cytotoxicity of platinum drugs: interference of EGFP. *Toxicol In Vitro* 22:1846-1852, IF<sub>2007</sub> = 2.193

**První autorka; design studie, podíl na experimentální práci, vyhodnocení dat, sepsání publikace**

- P21. Hofman J, Ahmadimoghaddam D, Hahnova L, Pavek P, **Ceckova M** and Staud F (2012) Olomoucine II and purvalanol A inhibit ABCG2 transporter in vitro and in situ and synergistically potentiate cytostatic effect of mitoxantrone. *Pharmacol Res* 65:312-319., IF<sub>2011</sub> = 4.436

**Podíl na designu studie a vyhodnocení dat, revize manuskriptu**

- P22. Hofman J, Kucera R, Cihalova D, Klimes J, **Ceckova M** and Staud F (2013) Olomoucine II, but not purvalanol A, is transported by breast cancer resistance protein (ABCG2) and P-glycoprotein (ABCB1). *PLoS One* 8:e75520, IF<sub>2012</sub> = 3.730

**Podíl na designu studie a vyhodnocení dat, revize manuskriptu**

- P23. Cihalova D, Hofman J, **Ceckova M** and Staud F (2013) Purvalanol A, olomoucine II and roscovitine inhibit ABCB1 transporter and synergistically potentiate cytotoxic effects of daunorubicin in vitro. *PLoS One* 8:e83467, IF<sub>2012</sub> = 3.730

**Školitel specialista prvního autora; design studie, podíl na vyhodnocení dat a sepsání publikace**

- P24. Cihalova D, Staud F and **Ceckova M** (2015) Interactions of cyclin-dependent kinase inhibitors AT-7519, flavopiridol and SNS-032 with ABCB1, ABCG2 and ABCC1 transporters and their potential to overcome multidrug resistance in vitro. *Cancer Chemother Pharmacol* 76:105-116, IF<sub>2014</sub> = 2.769

**Školitel specialista prvního autora, korespondující autor; design studie, podíl na vyhodnocení dat a sepsání publikace**

- P25. Cihalova D, **Ceckova M**, Kucera R, Klimes J and Staud F (2015) Dinaciclib, a cyclin-dependent kinase inhibitor, is a substrate of human ABCB1 and ABCG2 and an inhibitor of human ABCC1 in vitro. *Biochem Pharmacol* 98:465-472, IF<sub>2014</sub> = 5.009

**Školitel specialista prvního autora; design studie, podíl na vyhodnocení dat a sepsání publikace**

Práce v oponentním řízení (Doplňky 1-2)

- PD1. Reznicek J., **Ceckova M.**, Ptackova Z., Martinec O., Tupova L., Cerveny L., Staud F. (2017) MDR1 and BCRP transporter-mediated drug-drug interaction between rilpivirine and abacavir; effect on intestinal absorption in rats. *Pharmacological Research*, submitted

**Školitel specialista prvního autora; design studie, podíl na podíl na experimentální práci, vyhodnocení dat a sepsání publikace**

- PD2. Cihalova D, **Ceckova M**, Sorf A and Staud F. Palbociclib (PD 0332991) inhibits human transporters ABCB1 and ABCG2 in vitro. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, submitted

**Školitel specialista prvního autora, korespondující autor; design studie, podíl na vyhodnocení dat a sepsání publikace**



## V. Seznam použité literatury

1. Klaassen, C.D. and L.M. Aleksunes, *Xenobiotic, bile acid, and cholesterol transporters: function and regulation*. Pharmacol Rev, 2010. **62**(1): p. 1-96.
2. You, G. and M.E. Morris, *Drug transporters : molecular characterization and role in drug disposition*. Second edition. ed. 2007. xxiii, 495 pages, 12 unnumbered pages of plates.
3. DeGorter, M.K., C.Q. Xia, J.J. Yang, and R.B. Kim, *Drug transporters in drug efficacy and toxicity*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2012. **52**: p. 249-73.
4. Szakacs, G., A. Varadi, C. Ozvegy-Laczka, and B. Sarkadi, *The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox)*. Drug Discov Today, 2008. **13**(9-10): p. 379-93.
5. Saier, M.H., V.S. Reddy, B.V. Tsu, M.S. Ahmed, C. Li, and G. Moreno-Hagelsieb, *The Transporter Classification Database (TCDB): recent advances*. Nucleic Acids Research, 2016. **44**(D1): p. D372-D379.
6. Group, S.L.B. *Transporter Classification Database*. [cited 2017 20-04-2017].
7. Giacomini, K.M. and S.M. Huang, *Transporters in drug development and clinical pharmacology*. Clin Pharmacol Ther, 2013. **94**(1): p. 3-9.
8. Hediger, M.A., B. Clemencon, R.E. Burrier, and E.A. Bruford, *The ABCs of membrane transporters in health and disease (SLC series): introduction*. Mol Aspects Med, 2013. **34**(2-3): p. 95-107.
9. International Transporter, C., K.M. Giacomini, S.M. Huang, D.J. Tweedie, L.Z. Benet, K.L. Brouwer, X. Chu, A. Dahlin, R. Evers, V. Fischer, K.M. Hillgren, K.A. Hoffmaster, T. Ishikawa, D. Keppler, R.B. Kim, C.A. Lee, M. Niemi, J.W. Polli, Y. Sugiyama, P.W. Swaan, J.A. Ware, S.H. Wright, S.W. Yee, M.J. Zamek-Gliszczynski, and L. Zhang, *Membrane transporters in drug development*. Nat Rev Drug Discov, 2010. **9**(3): p. 215-36.
10. Maeda, K. and Y. Sugiyama, *Transporter biology in drug approval: regulatory aspects*. Mol Aspects Med, 2013. **34**(2-3): p. 711-8.
11. Prueksaritanont, T., X. Chu, C. Gibson, D. Cui, K.L. Yee, J. Ballard, T. Cabalu, and J. Hochman, *Drug-drug interaction studies: regulatory guidance and an industry perspective*. AAPS J, 2013. **15**(3): p. 629-45.
12. Nigam, S.K., *What do drug transporters really do?* Nat Rev Drug Discov, 2015. **14**(1): p. 29-44.
13. Zamek-Gliszczyński, M.J., K.A. Hoffmaster, D.J. Tweedie, K.M. Giacomini, and K.M. Hillgren, *Highlights from the International Transporter Consortium second workshop*. Clin Pharmacol Ther, 2012. **92**(5): p. 553-6.
14. Allikmets, R., B. Gerrard, A. Hutchinson, and M. Dean, *Characterization of the human ABC superfamily: isolation and mapping of 21 new genes using the expressed sequence tags database*. Hum Mol Genet, 1996. **5**(10): p. 1649-55.
15. Dean, M., A. Rzhetsky, and R. Allikmets, *The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily*. Genome Res, 2001. **11**(7): p. 1156-66.
16. Zolk, O. and M.F. Fromm, *Transporter-mediated drug uptake and efflux: important determinants of adverse drug reactions*. Clin Pharmacol Ther, 2011. **89**(6): p. 798-805.
17. Chen, Z., T. Shi, L. Zhang, P. Zhu, M. Deng, C. Huang, T. Hu, L. Jiang, and J. Li, *Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family in multidrug resistance: A review of the past decade*. Cancer Lett, 2016. **370**(1): p. 153-64.
18. Juliano, R.L. and V. Ling, *A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants*. Biochim Biophys Acta, 1976. **455**(1): p. 152-62.
19. Higgins, C.F., R. Callaghan, K.J. Linton, M.F. Rosenberg, and R.C. Ford, *Structure of the multidrug resistance P-glycoprotein*. Semin Cancer Biol, 1997. **8**(3): p. 135-42.

20. Rosenberg, M.F., R. Callaghan, R.C. Ford, and C.F. Higgins, *Structure of the multidrug resistance P-glycoprotein to 2.5 nm resolution determined by electron microscopy and image analysis*. J Biol Chem, 1997. **272**(16): p. 10685-94.
21. Li, Y., H. Yuan, K. Yang, W. Xu, W. Tang, and X. Li, *The structure and functions of P-glycoprotein*. Curr Med Chem, 2010. **17**(8): p. 786-800.
22. Callaghan, R., E. Crowley, S. Potter, and I.D. Kerr, *P-glycoprotein: so many ways to turn it on*. J Clin Pharmacol, 2008. **48**(3): p. 365-78.
23. Chan, H.S., G. Haddad, P.S. Thorner, G. DeBoer, Y.P. Lin, N. Ondrusek, H. Yeger, and V. Ling, *P-glycoprotein expression as a predictor of the outcome of therapy for neuroblastoma*. N Engl J Med, 1991. **325**(23): p. 1608-14.
24. Penson, R.T., E. Oliva, S.J. Skates, T. Glyptis, A.F. Fuller, Jr., A. Goodman, and M.V. Seiden, *Expression of multidrug resistance-1 protein inversely correlates with paclitaxel response and survival in ovarian cancer patients: a study in serial samples*. Gynecol Oncol, 2004. **93**(1): p. 98-106.
25. Doyle, L.A., W. Yang, L.V. Abruzzo, T. Krogmann, Y. Gao, A.K. Rishi, and D.D. Ross, *A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(26): p. 15665-70.
26. Ross, D.D., W. Yang, L.V. Abruzzo, W.S. Dalton, E. Schneider, H. Lage, M. Dietel, L. Greenberger, S.P. Cole, and L.A. Doyle, *Atypical multidrug resistance: breast cancer resistance protein messenger RNA expression in mitoxantrone-selected cell lines*. J Natl Cancer Inst, 1999. **91**(5): p. 429-33.
27. Allikmets, R., L.M. Schriml, A. Hutchinson, V. Romano-Spica, and M. Dean, *A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on chromosome 4q22 that is involved in multidrug resistance*. Cancer Res, 1998. **58**(23): p. 5337-9.
28. de Bruin, M., K. Miyake, T. Litman, R. Robey, and S.E. Bates, *Reversal of resistance by GF120918 in cell lines expressing the ABC half-transporter, MXR*. Cancer Lett, 1999. **146**(2): p. 117-26.
29. Litman, T., M. Brangi, E. Hudson, P. Fetsch, A. Abati, D.D. Ross, K. Miyake, J.H. Resau, and S.E. Bates, *The multidrug-resistant phenotype associated with overexpression of the new ABC half-transporter, MXR (ABCG2)*. J Cell Sci, 2000. **113 ( Pt 11)**: p. 2011-21.
30. Staud, F. and P. Pavlek, *Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2)*. Int J Biochem Cell Biol, 2005. **37**(4): p. 720-5.
31. Sarkadi, B. and G. Szakacs, *Understanding transport through pharmacological barriers--are we there yet?* Nat Rev Drug Discov, 2010. **9**(11): p. 897-8.
32. Krishnamurthy, P., T. Xie, and J.D. Schuetz, *The role of transporters in cellular heme and porphyrin homeostasis*. Pharmacol Ther, 2007. **114**(3): p. 345-58.
33. van Herwaarden, A.E. and A.H. Schinkel, *The function of breast cancer resistance protein in epithelial barriers, stem cells and milk secretion of drugs and xenotoxins*. Trends Pharmacol Sci, 2006. **27**(1): p. 10-6.
34. Benderra, Z., A.M. Faussat, L. Sayada, J.Y. Perrot, D. Chaoui, J.P. Marie, and O. Legrand, *Breast cancer resistance protein and P-glycoprotein in 149 adult acute myeloid leukemias*. Clin Cancer Res, 2004. **10**(23): p. 7896-902.
35. Steinbach, D., W. Sell, A. Voigt, J. Hermann, F. Zintl, and A. Sauerbrey, *BCRP gene expression is associated with a poor response to remission induction therapy in childhood acute myeloid leukemia*. Leukemia, 2002. **16**(8): p. 1443-7.
36. Tsunoda, S., T. Okumura, T. Ito, K. Kondo, C. Ortiz, E. Tanaka, G. Watanabe, A. Itami, Y. Sakai, and Y. Shimada, *ABCG2 expression is an independent unfavorable prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma*. Oncology, 2006. **71**(3-4): p. 251-8.
37. Wang, H., F. Luo, Z. Zhu, Z. Xu, X. Huang, R. Ma, H. He, Y. Zhu, K. Shao, and J. Zhao, *ABCG2 is a potential prognostic marker of overall survival in patients with clear cell renal cell carcinoma*. BMC Cancer, 2017. **17**(1): p. 222.

38. Robey, R.W., O. Polgar, J. Deeken, K.W. To, and S.E. Bates, *ABCG2: determining its relevance in clinical drug resistance*. *Cancer Metastasis Rev*, 2007. **26**(1): p. 39-57.
39. Fletcher, J.I., R.T. Williams, M.J. Henderson, M.D. Norris, and M. Haber, *ABC transporters as mediators of drug resistance and contributors to cancer cell biology*. *Drug Resist Updat*, 2016. **26**: p. 1-9.
40. Rosenberg, M.F., Q. Mao, A. Holzenburg, R.C. Ford, R.G. Deeley, and S.P. Cole, *The structure of the multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1). crystallization and single-particle analysis*. *J Biol Chem*, 2001. **276**(19): p. 16076-82.
41. Nies, A.T., G. Jedlitschky, J. Konig, C. Herold-Mende, H.H. Steiner, H.P. Schmitt, and D. Keppler, *Expression and immunolocalization of the multidrug resistance proteins, MRP1-MRP6 (ABCC1-ABCC6), in human brain*. *Neuroscience*, 2004. **129**(2): p. 349-60.
42. St-Pierre, M.V., M.A. Serrano, R.I. Macias, U. Dubs, M. Hoechli, U. Lauper, P.J. Meier, and J.J. Marin, *Expression of members of the multidrug resistance protein family in human term placenta*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000. **279**(4): p. R1495-503.
43. Atkinson, D.E., S.L. Greenwood, C.P. Sibley, J.D. Glazier, and L.J. Fairbairn, *Role of MDR1 and MRP1 in trophoblast cells, elucidated using retroviral gene transfer*. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003. **285**(3): p. C584-91.
44. Straka, E., I. Ellinger, C. Balthasar, M. Scheinast, J. Schatz, T. Szattler, S. Bleichert, L. Saleh, M. Knofler, H. Zeisler, M. Hengstschlager, M. Rosner, H. Salzer, and C. Gundacker, *Mercury toxicokinetics of the healthy human term placenta involve amino acid transporters and ABC transporters*. *Toxicology*, 2016. **340**: p. 34-42.
45. Teodori, E., S. Dei, C. Martelli, S. Scapecchi, and F. Gualtieri, *The functions and structure of ABC transporters: implications for the design of new inhibitors of Pgp and MRP1 to control multidrug resistance (MDR)*. *Curr Drug Targets*, 2006. **7**(7): p. 893-909.
46. Hipfner, D.R., R.G. Deeley, and S.P. Cole, *Structural, mechanistic and clinical aspects of MRP1*. *Biochim Biophys Acta*, 1999. **1461**(2): p. 359-76.
47. Rudas, M., M. Filipits, S. Taucher, T. Stranzl, G.G. Steger, R. Jakesz, R. Pirker, and G. Pohl, *Expression of MRP1, LRP and Pgp in breast carcinoma patients treated with preoperative chemotherapy*. *Breast Cancer Res Treat*, 2003. **81**(2): p. 149-57.
48. Filipits, M., G. Pohl, M. Rudas, O. Dietze, S. Lax, R. Grill, R. Pirker, C.C. Zielinski, H. Hausmaninger, E. Kubista, H. Samonigg, and R. Jakesz, *Clinical role of multidrug resistance protein 1 expression in chemotherapy resistance in early-stage breast cancer: the Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group*. *J Clin Oncol*, 2005. **23**(6): p. 1161-8.
49. Bordow, S.B., M. Haber, J. Madafiglio, B. Cheung, G.M. Marshall, and M.D. Norris, *Expression of the multidrug resistance-associated protein (MRP) gene correlates with amplification and overexpression of the N-myc oncogene in childhood neuroblastoma*. *Cancer Res*, 1994. **54**(19): p. 5036-40.
50. Cole, S.P. and R.G. Deeley, *Transport of glutathione and glutathione conjugates by MRP1*. *Trends Pharmacol Sci*, 2006. **27**(8): p. 438-46.
51. Oude Elferink, R.P. and P.L. Jansen, *The role of the canalicular multispecific organic anion transporter in the disposal of endo- and xenobiotics*. *Pharmacol Ther*, 1994. **64**(1): p. 77-97.
52. Toh, S., M. Wada, T. Uchiumi, A. Inokuchi, Y. Makino, Y. Horie, Y. Adachi, S. Sakisaka, and M. Kuwano, *Genomic structure of the canalicular multispecific organic anion-transporter gene (MRP2/cMOAT) and mutations in the ATP-binding-cassette region in Dubin-Johnson syndrome*. *Am J Hum Genet*, 1999. **64**(3): p. 739-46.
53. Kajihara, S., A. Hisatomi, T. Mizuta, T. Hara, I. Ozaki, I. Wada, and K. Yamamoto, *A splice mutation in the human canalicular multispecific organic anion transporter gene causes Dubin-Johnson syndrome*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998. **253**(2): p. 454-7.
54. Paulusma, C.C., M. Kool, P.J. Bosma, G.L. Scheffer, F. ter Borg, R.J. Scheper, G.N. Tytgat, P. Borst, F. Baas, and R.P. Oude Elferink, *A mutation in the human canalicular multispecific organic anion transporter gene causes the Dubin-Johnson syndrome*. *Hepatology*, 1997. **25**(6): p. 1539-42.

55. Motohashi, H., Y. Nakao, S. Masuda, T. Katsura, T. Kamba, O. Ogawa, and K. Inui, *Precise comparison of protein localization among OCT, OAT, and MATE in human kidney*. J Pharm Sci, 2013. **102**(9): p. 3302-8.
56. Nigam, S.K., K.T. Bush, G. Martovetsky, S.Y. Ahn, H.C. Liu, E. Richard, V. Bhatnagar, and W. Wu, *The organic anion transporter (OAT) family: a systems biology perspective*. Physiol Rev, 2015. **95**(1): p. 83-123.
57. Koepsell, H. and H. Endou, *The SLC22 drug transporter family*. Pflugers Arch, 2004. **447**(5): p. 666-76.
58. Yonezawa, A. and K. Inui, *Organic cation transporter OCT/SLC22A and H(+)/organic cation antiporter MATE/SLC47A are key molecules for nephrotoxicity of platinum agents*. Biochem Pharmacol, 2011. **81**(5): p. 563-8.
59. Kekuda, R., P.D. Prasad, X. Wu, H. Wang, Y.J. Fei, F.H. Leibach, and V. Ganapathy, *Cloning and functional characterization of a potential-sensitive, polyspecific organic cation transporter (OCT3) most abundantly expressed in placenta*. J Biol Chem, 1998. **273**(26): p. 15971-9.
60. Leazer, T.M. and C.D. Klaassen, *The presence of xenobiotic transporters in rat placenta*. Drug Metab Dispos, 2003. **31**(2): p. 153-67.
61. Wu, X., W. Huang, M.E. Ganapathy, H. Wang, R. Kekuda, S.J. Conway, F.H. Leibach, and V. Ganapathy, *Structure, function, and regional distribution of the organic cation transporter OCT3 in the kidney*. Am J Physiol Renal Physiol, 2000. **279**(3): p. F449-58.
62. Otsuka, M., M. Yasuda, Y. Morita, C. Otsuka, T. Tsuchiya, H. Omote, and Y. Moriyama, *Identification of essential amino acid residues of the NorM Na<sup>+</sup>/multidrug antiporter in Vibrio parahaemolyticus*. J Bacteriol, 2005. **187**(5): p. 1552-8.
63. Motohashi, H. and K. Inui, *Multidrug and toxin extrusion family SLC47: physiological, pharmacokinetic and toxicokinetic importance of MATE1 and MATE2-K*. Mol Aspects Med, 2013. **34**(2-3): p. 661-8.
64. Komatsu, T., M. Hiasa, T. Miyaji, T. Kanamoto, T. Matsumoto, M. Otsuka, Y. Moriyama, and H. Omote, *Characterization of the human MATE2 proton-coupled polyspecific organic cation exporter*. Int J Biochem Cell Biol, 2011. **43**(6): p. 913-8.
65. Tanihara, Y., S. Masuda, T. Sato, T. Katsura, O. Ogawa, and K. Inui, *Substrate specificity of MATE1 and MATE2-K, human multidrug and toxin extrusions/H(+)-organic cation antiporters*. Biochem Pharmacol, 2007. **74**(2): p. 359-71.
66. Terada, T. and K. Inui, *Physiological and pharmacokinetic roles of H<sup>+</sup>/organic cation antiporters (MATE/SLC47A)*. Biochem Pharmacol, 2008. **75**(9): p. 1689-96.
67. Wittwer, M.B., A.A. Zur, N. Khuri, Y. Kido, A. Kosaka, X. Zhang, K.M. Morrissey, A. Sali, Y. Huang, and K.M. Giacomini, *Discovery of potent, selective multidrug and toxin extrusion transporter 1 (MATE1, SLC47A1) inhibitors through prescription drug profiling and computational modeling*. J Med Chem, 2013. **56**(3): p. 781-95.
68. König, J., F. Müller, and M.F. Fromm, *Transporters and drug-drug interactions: important determinants of drug disposition and effects*. Pharmacol Rev, 2013. **65**(3): p. 944-66.
69. Müller, F. and M.F. Fromm, *Transporter-mediated drug-drug interactions*. Pharmacogenomics, 2011. **12**(7): p. 1017-37.
70. Eberl, S., B. Renner, A. Neubert, M. Reisig, I. Bachmakov, J. König, F. Dorje, T.E. Murdter, A. Ackermann, H. Dormann, K.G. Gassmann, E.G. Hahn, S. Zierhut, K. Brune, and M.F. Fromm, *Role of p-glycoprotein inhibition for drug interactions: evidence from in vitro and pharmacoepidemiological studies*. Clin Pharmacokinet, 2007. **46**(12): p. 1039-49.
71. Fromm, M.F., R.B. Kim, C.M. Stein, G.R. Wilkinson, and D.M. Roden, *Inhibition of P-glycoprotein-mediated drug transport: A unifying mechanism to explain the interaction between digoxin and quinidine [see comments]*. Circulation, 1999. **99**(4): p. 552-7.
72. Keskitalo, J.E., O. Zolk, M.F. Fromm, K.J. Kurkinen, P.J. Neuvonen, and M. Niemi, *ABCG2 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin*. Clin Pharmacol Ther, 2009. **86**(2): p. 197-203.

73. Angelin, B., A. Arvidsson, R. Dahlqvist, A. Hedman, and K. Schenck-Gustafsson, *Quinidine reduces biliary clearance of digoxin in man*. Eur J Clin Invest, 1987. **17**(3): p. 262-5.
74. Hedman, A., B. Angelin, A. Arvidsson, O. Beck, R. Dahlqvist, B. Nilsson, M. Olsson, and K. Schenck-Gustafsson, *Digoxin-verapamil interaction: reduction of biliary but not renal digoxin clearance in humans*. Clin Pharmacol Ther, 1991. **49**(3): p. 256-62.
75. Hedman, A., B. Angelin, A. Arvidsson, R. Dahlqvist, and B. Nilsson, *Interactions in the renal and biliary elimination of digoxin: stereoselective difference between quinine and quinidine*. Clin Pharmacol Ther, 1990. **47**(1): p. 20-6.
76. Overbosch, D., C. Van Gulpen, J. Hermans, and H. Mattie, *The effect of probenecid on the renal tubular excretion of benzylpenicillin*. Br J Clin Pharmacol, 1988. **25**(1): p. 51-8.
77. Filipinski, K.K., R.H. Mathijssen, T.S. Mikkelsen, A.H. Schinkel, and A. Sparreboom, *Contribution of organic cation transporter 2 (OCT2) to cisplatin-induced nephrotoxicity*. Clin Pharmacol Ther, 2009. **86**(4): p. 396-402.
78. Katsuda, H., M. Yamashita, H. Katsura, J. Yu, Y. Waki, N. Nagata, Y. Sai, and K. Miyamoto, *Protecting cisplatin-induced nephrotoxicity with cimetidine does not affect antitumor activity*. Biol Pharm Bull, 2010. **33**(11): p. 1867-71.
79. Tanihara, Y., S. Masuda, T. Katsura, and K. Inui, *Protective effect of concomitant administration of imatinib on cisplatin-induced nephrotoxicity focusing on renal organic cation transporter OCT2*. Biochem Pharmacol, 2009. **78**(9): p. 1263-71.
80. Yonezawa, A., S. Masuda, S. Yokoo, T. Katsura, and K. Inui, *Cisplatin and oxaliplatin, but not carboplatin and nedaplatin, are substrates for human organic cation transporters (SLC22A1-3 and multidrug and toxin extrusion family)*. J Pharmacol Exp Ther, 2006. **319**(2): p. 879-86.
81. Ding, R., Y. Tayrouz, K.D. Riedel, J. Burhenne, J. Weiss, G. Mikus, and W.E. Haefeli, *Substantial pharmacokinetic interaction between digoxin and ritonavir in healthy volunteers*. Clin Pharmacol Ther, 2004. **76**(1): p. 73-84.
82. Jalava, K.M., J. Partanen, and P.J. Neuvonen, *Itraconazole decreases renal clearance of digoxin*. Ther Drug Monit, 1997. **19**(6): p. 609-13.
83. Sadeque, A.J., C. Wandel, H. He, S. Shah, and A.J. Wood, *Increased drug delivery to the brain by P-glycoprotein inhibition*. Clin Pharmacol Ther, 2000. **68**(3): p. 231-7.
84. FDA, *Guidance for industry, drug interaction studies — study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations*. Clinical Pharmacology. Silver Spring (MD): FDA. 2012.
85. Zamek-Gliszczynski, M.J., K.A. Hoffmaster, D.J. Tweedie, K.M. Giacomini, and K.M. Hillgren, *Highlights from the International Transporter Consortium Second Workshop*. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2012. **92**(5): p. 553-556.
86. Zhang, L., Y.D. Zhang, P. Zhao, and S.M. Huang, *Predicting drug-drug interactions: an FDA perspective*. AAPS J, 2009. **11**(2): p. 300-6.
87. WHO, *Consolidated Guidelines on the Use of Antiretroviral Drugs for Treating and Preventing HIV Infection: Recommendations for a Public Health Approach*. Geneva, Switzerland. 2013.
88. Kis, O., K. Robillard, G.N. Chan, and R. Bendayan, *The complexities of antiretroviral drug-drug interactions: role of ABC and SLC transporters*. Trends Pharmacol Sci, 2010. **31**(1): p. 22-35.
89. Gottesman, M.M., T. Fojo, and S.E. Bates, *Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters*. Nat Rev Cancer, 2002. **2**(1): p. 48-58.
90. Li, W., H. Zhang, Y.G. Assaraf, K. Zhao, X. Xu, J. Xie, D.H. Yang, and Z.S. Chen, *Overcoming ABC transporter-mediated multidrug resistance: Molecular mechanisms and novel therapeutic drug strategies*. Drug Resist Updat, 2016. **27**: p. 14-29.
91. Szakacs, G., M.D. Hall, M.M. Gottesman, A. Boumendjel, R. Kachadourian, B.J. Day, H. Baubichon-Cortay, and A. Di Pietro, *Targeting the Achilles heel of multidrug-resistant cancer by exploiting the fitness cost of resistance*. Chem Rev, 2014. **114**(11): p. 5753-74.
92. Szakacs, G., J.K. Paterson, J.A. Ludwig, C. Booth-Genthe, and M.M. Gottesman, *Targeting multidrug resistance in cancer*. Nat Rev Drug Discov, 2006. **5**(3): p. 219-34.

93. Tsuruo, T., H. Iida, S. Tsukagoshi, and Y. Sakurai, *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): p. 1967-72.
94. Slater, L.M., P. Sweet, M. Stupecky, and S. Gupta, *Cyclosporin A reverses vincristine and daunorubicin resistance in acute lymphatic leukemia in vitro*. *J Clin Invest*, 1986. **77**(4): p. 1405-8.
95. List, A.F., K.J. Kopecky, C.L. Willman, D.R. Head, D.L. Persons, M.L. Slovak, R. Dorr, C. Karanes, H.E. Hynes, J.H. Doroshow, M. Shurafa, and F.R. Appelbaum, *Benefit of cyclosporine modulation of drug resistance in patients with poor-risk acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group study*. *Blood*, 2001. **98**(12): p. 3212-20.
96. Benson, A.B., 3rd, D.L. Trump, J.M. Koeller, M.I. Egorin, E.A. Olman, R.S. Witte, T.E. Davis, and D.C. Tormey, *Phase I study of vinblastine and verapamil given by concurrent iv infusion*. *Cancer Treat Rep*, 1985. **69**(7-8): p. 795-9.
97. Verweij, J., H. Herweijer, R. Oosterom, M.E. van der Burg, A.S. Planting, C. Seynaeve, G. Stoter, and K. Nooter, *A phase II study of epidoxorubicin in colorectal cancer and the use of cyclosporin-A in an attempt to reverse multidrug resistance*. *Br J Cancer*, 1991. **64**(2): p. 361-4.
98. Twentyman, P.R. and N.M. Bleehen, *Resistance modification by PSC-833, a novel non-immunosuppressive cyclosporin [corrected]*. *Eur J Cancer*, 1991. **27**(12): p. 1639-42.
99. Baer, M.R., S.L. George, R.K. Dodge, K.L. O'Loughlin, H. Minderman, M.A. Caligiuri, J. Anastasi, B.L. Powell, J.E. Kolitz, C.A. Schiffer, C.D. Bloomfield, and R.A. Larson, *Phase 3 study of the multidrug resistance modulator PSC-833 in previously untreated patients 60 years of age and older with acute myeloid leukemia: Cancer and Leukemia Group B Study 9720*. *Blood*, 2002. **100**(4): p. 1224-32.
100. Kolitz, J.E., S.L. George, R.K. Dodge, D.D. Hurd, B.L. Powell, S.L. Allen, E. Velez-Garcia, J.O. Moore, T.C. Shea, E. Hoke, M.A. Caligiuri, J.W. Vardiman, C.D. Bloomfield, R.A. Larson, Cancer, and B. Leukemia Group, *Dose escalation studies of cytarabine, daunorubicin, and etoposide with and without multidrug resistance modulation with PSC-833 in untreated adults with acute myeloid leukemia younger than 60 years: final induction results of Cancer and Leukemia Group B Study 9621*. *J Clin Oncol*, 2004. **22**(21): p. 4290-301.
101. Lee, E.J., S.L. George, M. Caligiuri, T.P. Szatrowski, B.L. Powell, S. Lemke, R.K. Dodge, R. Smith, M. Baer, and C.A. Schiffer, *Parallel phase I studies of daunorubicin given with cytarabine and etoposide with or without the multidrug resistance modulator PSC-833 in previously untreated patients 60 years of age or older with acute myeloid leukemia: results of cancer and leukemia group B study 9420*. *J Clin Oncol*, 1999. **17**(9): p. 2831-9.
102. Friedenber, W.R., M. Rue, E.A. Blood, W.S. Dalton, C. Shustik, R.A. Larson, P. Sonneveld, and P.R. Greipp, *Phase III study of PSC-833 (valspodar) in combination with vincristine, doxorubicin, and dexamethasone (valspodar/VAD) versus VAD alone in patients with recurring or refractory multiple myeloma (E1A95): a trial of the Eastern Cooperative Oncology Group*. *Cancer*, 2006. **106**(4): p. 830-8.
103. Fox, E. and S.E. Bates, *Tariquidar (XR9576): a P-glycoprotein drug efflux pump inhibitor*. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2007. **7**(4): p. 447-59.
104. Mistry, P., A.J. Stewart, W. Dangerfield, S. Okiji, C. Little, D. Bootle, J.A. Plumb, D. Templeton, and P. Charlton, *In vitro and in vivo reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by a novel potent modulator, XR9576*. *Cancer Res*, 2001. **61**(2): p. 749-58.
105. Gekeler, V., W. Ise, K.H. Sanders, W.R. Ulrich, and J. Beck, *The leukotriene LTD4 receptor antagonist MK571 specifically modulates MRP associated multidrug resistance*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995. **208**(1): p. 345-52.
106. Rabindran, S.K., D.D. Ross, L.A. Doyle, W. Yang, and L.M. Greenberger, *Fumitremorgin C reverses multidrug resistance in cells transfected with the breast cancer resistance protein*. *Cancer Res*, 2000. **60**(1): p. 47-50.

107. Kathawala, R.J., P. Gupta, C.R. Ashby, Jr., and Z.S. Chen, *The modulation of ABC transporter-mediated multidrug resistance in cancer: A review of the past decade*. Drug Resist Updat, 2015. **18C**: p. 1-17.
108. Smith, C.H., A.J. Moe, and V. Ganapathy, *Nutrient transport pathways across the epithelium of the placenta*. Annu Rev Nutr, 1992. **12**: p. 183-206.
109. Jones, C.J. and H. Fox, *Ultrastructure of the normal human placenta*. Electron Microsc Rev, 1991. **4**(1): p. 129-78.
110. Sibley, C.P., *Understanding placental nutrient transfer--why bother? New biomarkers of fetal growth*. J Physiol, 2009. **587**(Pt 14): p. 3431-40.
111. Čečková, M., *Expres, lokalizace a funkce lékových transportérů p glykoproteinu a bcrp v placentě*, in *Katedra farmakologie a toxikologie*. 2005, Karlova Univerzita v Praze. p. 86.
112. Dilworth, M.R. and C.P. Sibley, *Review: Transport across the placenta of mice and women*. Placenta, 2013. **34 Suppl**: p. S34-9.
113. Marin, J.J., O. Briz, and M.A. Serrano, *A review on the molecular mechanisms involved in the placental barrier for drugs*. Curr Drug Deliv, 2004. **1**(3): p. 275-89.
114. Ganapathy, V. and P.D. Prasad, *Role of transporters in placental transfer of drugs*. Toxicol Appl Pharmacol, 2005. **207**(2 Suppl): p. 381-7.
115. Ganapathy, V., P.D. Prasad, M.E. Ganapathy, and F.H. Leibach, *Placental transporters relevant to drug distribution across the maternal-fetal interface*. J Pharmacol Exp Ther, 2000. **294**(2): p. 413-20.
116. Mohammed, T., J. Stulc, J.D. Glazier, R.D. Boyd, and C.P. Sibley, *Mechanisms of potassium transfer across the dually perfused rat placenta*. Am J Physiol, 1993. **265**(2 Pt 2): p. R341-7.
117. Pavek, P., Z. Fendrich, F. Staud, J. Malakova, H. Brozmanova, M. Laznicek, V. Semecky, M. Grundmann, and V. Palicka, *Influence of P-glycoprotein on the transplacental passage of cyclosporine*. J Pharm Sci, 2001. **90**(10): p. 1583-92.
118. Enders, A.C. and T.N. Blankenship, *Comparative placental structure*. Adv Drug Deliv Rev, 1999. **38**(1): p. 3-15.
119. Bourget, P., C. Roulot, and H. Fernandez, *Models for placental transfer studies of drugs*. Clin Pharmacokinet, 1995. **28**(2): p. 161-80.
120. Sastry, B.V., *Techniques to study human placental transport*. Adv Drug Deliv Rev, 1999. **38**(1): p. 17-39.
121. Greenwood, S.L. and C.P. Sibley, *In vitro methods for studying human placental amino acid transport placental villous fragments*. Methods Mol Med, 2006. **122**: p. 253-64.
122. Blaschitz, A., U. Weiss, G. Dohr, and G. Desoye, *Antibody reaction patterns in first trimester placenta: implications for trophoblast isolation and purity screening*. Placenta, 2000. **21**(7): p. 733-41.
123. Money, T.T., R.G. King, M.H. Wong, J.L. Stevenson, B. Kalionis, J.J. Erwich, M.A. Huisman, A. Timmer, U. Hiden, G. Desoye, and N.M. Gude, *Expression and cellular localisation of chloride intracellular channel 3 in human placenta and fetal membranes*. Placenta, 2007. **28**(5-6): p. 429-36.
124. Glazier, J.D. and C.P. Sibley, *In vitro methods for studying human placental amino acid transport: placental plasma membrane vesicles*. Methods Mol Med, 2006. **122**: p. 241-52.
125. Pattillo, R.A. and G.O. Gey, *The establishment of a cell line of human hormone-synthesizing trophoblastic cells in vitro*. Cancer Res, 1968. **28**(7): p. 1231-6.
126. Serrano, M.A., R.I. Macias, O. Briz, M.J. Monte, A.G. Blazquez, C. Williamson, R. Kubitz, and J.J. Marin, *Expression in human trophoblast and choriocarcinoma cell lines, BeWo, Jeg-3 and JAr of genes involved in the hepatobiliary-like excretory function of the placenta*. Placenta, 2007. **28**(2-3): p. 107-17.
127. Cerneus, D.P. and A. van der Ende, *Apical and basolateral transferrin receptors in polarized BeWo cells recycle through separate endosomes*. J Cell Biol, 1991. **114**(6): p. 1149-58.

128. Ellinger, I., M. Schwab, A. Stefanescu, W. Hunziker, and R. Fuchs, *IgG transport across trophoblast-derived BeWo cells: a model system to study IgG transport in the placenta*. Eur J Immunol, 1999. **29**(3): p. 733-44.
129. Rytting, E. and K.L. Audus, *Novel Organic Cation Transporter 2-Mediated Carnitine Uptake in Placental Choriocarcinoma (BeWo) Cells*. J Pharmacol Exp Ther, 2005. **312**(1): p. 192-198.
130. van der Ende, A., A. du Maine, C.F. Simmons, A.L. Schwartz, and G.J. Strous, *Iron metabolism in BeWo chorion carcinoma cells. Transferrin-mediated uptake and release of iron*. J Biol Chem, 1987. **262**(18): p. 8910-6.
131. Ma, Z., X. Yang, T. Jiang, M. Bai, C. Zheng, S. Zeng, D. Sun, and H. Jiang, *Multiple SLC and ABC Transporters Contribute to the Placental Transfer of Entecavir*. Drug Metab Dispos, 2017. **45**(3): p. 269-278.
132. Rahnema, F., F. Shafiei, P.D. Gluckman, M.D. Mitchell, and P.E. Lobie, *Epigenetic regulation of human trophoblastic cell migration and invasion*. Endocrinology, 2006. **147**(11): p. 5275-83.
133. Yamamoto, T., K. Kuniki, Y. Takekuma, T. Hirano, K. Iseki, and M. Sugawara, *Ribavirin uptake by cultured human choriocarcinoma (BeWo) cells and Xenopus laevis oocytes expressing recombinant plasma membrane human nucleoside transporters*. Eur J Pharmacol, 2007. **557**(1): p. 1-8.
134. Nakamura, Y., S. Ikeda, T. Furukawa, T. Sumizawa, A. Tani, S. Akiyama, and Y. Nagata, *Function of P-glycoprotein expressed in placenta and mole*. Biochem Biophys Res Commun, 1997. **235**(3): p. 849-53.
135. Pavek, P., F. Staud, Z. Fendrich, H. Sklenarova, A. Libra, M. Novotna, M. Kopecky, M. Nobilis, and V. Semecky, *Examination of the functional activity of P-glycoprotein in the rat placental barrier using rhodamine 123*. J Pharmacol Exp Ther, 2003. **305**(3): p. 1239-50.
136. Sugawara, I., I. Kataoka, Y. Morishita, H. Hamada, T. Tsuruo, S. Itoyama, and S. Mori, *Tissue distribution of P-glycoprotein encoded by a multidrug-resistant gene as revealed by a monoclonal antibody, MRK 16*. Cancer Res, 1988. **48**(7): p. 1926-9.
137. Utoguchi, N., G.A. Chandorkar, M. Avery, and K.L. Audus, *Functional expression of P-glycoprotein in primary cultures of human cytotrophoblasts and BeWo cells*. Reprod Toxicol, 2000. **14**(3): p. 217-24.
138. Jonker, J.W., J.W. Smit, R.F. Brinkhuis, M. Maliepaard, J.H. Beijnen, J.H. Schellens, and A.H. Schinkel, *Role of breast cancer resistance protein in the bioavailability and fetal penetration of topotecan*. J Natl Cancer Inst, 2000. **92**(20): p. 1651-6.
139. Komatani, H., H. Kotani, Y. Hara, R. Nakagawa, M. Matsumoto, H. Arakawa, and S. Nishimura, *Identification of breast cancer resistant protein/mitoxantrone resistance/placenta-specific, ATP-binding cassette transporter as a transporter of NB-506 and J-107088, topoisomerase I inhibitors with an indolocarbazole structure*. Cancer Res, 2001. **61**(7): p. 2827-32.
140. An, R., Y. Hagiya, A. Tamura, S. Li, H. Saito, D. Tokushima, and T. Ishikawa, *Cellular phototoxicity evoked through the inhibition of human ABC transporter ABCG2 by cyclin-dependent kinase inhibitors in vitro*. Pharm Res, 2009. **26**(2): p. 449-58.
141. Rives, M.L., J.A. Javitch, and A.D. Wickenden, *Potentiating SLC transporter activity: Emerging drug discovery opportunities*. Biochem Pharmacol, 2017.
142. Lin, L., S.W. Yee, R.B. Kim, and K.M. Giacomini, *SLC transporters as therapeutic targets: emerging opportunities*. Nat Rev Drug Discov, 2015. **14**(8): p. 543-60.



## VI. Soubor publikovaných prací

P1. **NOVOTNA M**, LIBRA A, KOPECKY M, PAVEK P, FENDRICH Z, SEMECKY V AND STAUD F  
(2004) P-glycoprotein expression and distribution in the rat placenta during pregnancy. *Reprod Toxicol* 18:785-792.

P2. **CECKOVA-NOVOTNA M**, PAVEK P AND STAUD F (2006) P-glycoprotein in the placenta: expression, localization, regulation and function. *Reprod Toxicol* 22:400-410.

- P3. **CECKOVA M**, LIBRA A, PAVEK P, NACHTIGAL P, BRABEC M, FUCHS R AND STAUD F (2006)  
Expression and functional activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2) transporter in the human choriocarcinoma cell line BeWo. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 33:58-65.

P4. STAUD F, VACKOVA Z, POSPECHOVA K, PAVEK P, **CECKOVA M**, LIBRA A, CYGALOVA L, NACHTIGAL P AND FENDRICH Z (2006) Expression and transport activity of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in dually perfused rat placenta and HRP-1 cell line. *J Pharmacol Exp Ther* 319:53-62.

P5. CYGALOVA L, **CECKOVA M**, PAVEK P AND STAUD F (2008) Role of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in fetal protection during gestation in rat. *Toxicol Lett* 178:176-180.

P6. CYGALOVA LH, HOFMAN J, **CECKOVA M** AND STAUD F (2009) Transplacental pharmacokinetics of glyburide, rhodamine 123, and BODIPY FL prazosin: effect of drug efflux transporters and lipid solubility. *J Pharmacol Exp Ther* 331:1118-1125.

P7. STAUD F, **CECKOVA M**, MICUDA S AND PAVEK P (2010) Expression and function of p-glycoprotein in normal tissues: effect on pharmacokinetics. *Methods Mol Biol* 596:199-222.



P8. HAHNOVA-CYGALOVA L, **CECKOVA M** AND STAUD F (2011) Fetoprotective activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2): expression and function throughout pregnancy. *Drug Metab Rev* 43:53-68.

- p9. Staud F, Cerveny L and **Ceckova M** (2012) Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure. *J Drug Target* 20:736-763.

- P10. AHMADIMOGHADDAM D, HOFMAN J, ZEMANKOVA L, NACHTIGAL P, DOLEZELOVA E, CERVENY L, **CECKOVA M**, MICUDA S AND STAUD F (2012) Synchronized activity of organic cation transporter 3 (Oct3/Slc22a3) and multidrug and toxin extrusion 1 (Mate1/Slc47a1) transporter in transplacental passage of MPP+ in rat. *Toxicol Sci* 128:471-481.

- P11. AHMADIMOGHADDAM D, ZEMANKOVA L, NACHTIGAL P, DOLEZELOVA E, NEUMANOVA Z, CERVENY L, **CECKOVA M**, KACEROVSKY M, MICUDA S AND STAUD F (2013) Organic cation transporter 3 (OCT3/SLC22A3) and multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter in the placenta and fetal tissues: expression profile and fetus protective role at different stages of gestation. *Biol Reprod* 88:55.

- P12. STAUD F, CERVENY L, AHMADIMOGHADDAM D AND **CECKOVA M** (2013) Multidrug and toxin extrusion proteins (MATE/SLC47); role in pharmacokinetics. *Int J Biochem Cell Biol* 45:2007-2011

- P13. NEUMANOVA Z, CERVENY L, **CECKOVA M** AND STAUD F (2014) Interactions of tenofovir and tenofovir disoproxil fumarate with drug efflux transporters ABCB1, ABCG2, and ABCC2; role in transport across the placenta. *AIDS* 28:9-17.

- P14. STAUD F AND CECKOVA M (2015) Regulation of drug transporter expression and function in the placenta. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 11:533-555.

- P15. NEUMANOVA Z, CERVENY L, GREENWOOD SL, **CECKOVA M** AND STAUD F (2015) Effect of drug efflux transporters on placental transport of antiretroviral agent abacavir. *Reprod Toxicol* 57:176-182.



- P16. Reznicek J, **Ceckova M**, Cerveny L, Müller F and Staud F (2016) Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters. *Xenobiotica*:1-9.

- P17. NEUMANOVA Z, CERVENY L, **CECKOVA M** AND STAUD F (2016) Role of ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC5 transporters in placental passage of zidovudine. *Biopharm Drug Dispos* **37**:28-38.

- P18. REZNICEK J, **CECKOVA M**, TUPOVA L AND STAUD F (2016) Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate. *Placenta* 47:124-129.

- P19. **CECKOVA M**, REZNICEK J, PTACKOVA Z, CERVENY L, MÜLLER F, KACEROVSKY M, FROMM MF, GLAZIER JD AND STAUD F (2016) Role of ABC and Solute Carrier Transporters in the Placental Transport of Lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother* 60:5563-5572.

- P20. **CECKOVA M**, VACKOVA Z, RADILOVA H, LIBRA A, BUNCEK M AND STAUD F (2008) Effect of ABCG2 on cytotoxicity of platinum drugs: interference of EGFP. *Toxicol In Vitro* 22:1846-1852.

- P21. HOFMAN J, AHMADIMOGHADDAM D, HAHNOVA L, PAVEK P, **CECKOVA M** AND STAUD F (2012) Olomoucine II and purvalanol A inhibit ABCG2 transporter in vitro and in situ and synergistically potentiate cytostatic effect of mitoxantrone. *Pharmacol Res* 65:312-319.

- P22. HOFMAN J, KUCERA R, CIHALOVA D, KLIMES J, **CECKOVA M** AND STAUD F (2013)  
Olomoucine II, but not purvalanol A, is transported by breast cancer  
resistance protein (ABCG2) and P-glycoprotein (ABCB1). *PLoS One* 8:e75520.

- P23. CIHALOVA D, HOFMAN J, **CECKOVA M** AND STAUD F (2013) Purvalanol A, olomoucine II and roscovitine inhibit ABCB1 transporter and synergistically potentiate cytotoxic effects of daunorubicin in vitro. *PLoS One* 8:e83467.



P24. CIHALOVA D, **CECKOVA M**, KUCERA R, KLIMES J AND STAUD F (2015) Dinaciclib, a cyclin-dependent kinase inhibitor, is a substrate of human ABCB1 and ABCG2 and an inhibitor of human ABCC1 in vitro. *Biochem Pharmacol* 98:465-472.

- P25. CIHALOVA D, STAUD F AND **CECKOVA M** (2015) Interactions of cyclin-dependent kinase inhibitors AT-7519, flavopiridol and SNS-032 with ABCB1, ABCG2 and ABCC1 transporters and their potential to overcome multidrug resistance in vitro. *Cancer Chemother Pharmacol* 76:105-116.

Práce v oponentním řízení (Doplněk 1)

PD1. REZNICEK J., **CECKOVA M.**, PTACKOVA Z., MARTINEC O., TUPOVA L., CERVENY L., STAUD F. (2017) MDR1 and BCRP transporter-mediated drug-drug interaction between rilpivirine and abacavir; effect on intestinal absorption in rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, submitted

Práce v oponentním řízení (Doplněk 2)

- PD2. CIHALOVA D, **CECKOVA M**, SORF A AND STAUD F. Palbociclib (PD 0332991) inhibits human transporters ABCB1 and ABCG2 in vitro. *BMC Cancer*, submitted