

Wstępna ocena polimorfizmu T–129C w regionie promotorowym genu *ABCB1* u pacjentów z rakiem żołądka

Preliminary evaluation of T–129C polymorphism in the promoter region of the *ABCB1* gene in patients with gastric adenocarcinoma

DAGMARA SZMAJDA, ADRIAN KRYGIER, EWA BALCERCZAK,
MARTA ŻEBROWSKA

Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki, Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej, Międzywydziałowa Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Wstęp: Rak żołądka jest jedną z najczęstszych chorób nowotworowych na świecie. Patogeneza tego nowotworu nie została w pełni poznana. Wśród czynników ryzyka rozwoju choroby wymienia się: zakażenie *Helicobacter pylori*, niewłaściwą dietę, spożywanie alkoholu czy palenie tytoniu. Z drugiej strony, zakłada się, iż patogeneza rozwoju tego raka jest związana ze współzależnością pomiędzy czynnikami ryzyka a predyspozycją genetyczną samego pacjenta. Jednym z genów zaangażowanych w proces kancerogenezy może być *ABCB1*, którego produkt białkowy – glikoproteina P, poprzez usuwanie ksenobiotyków z komórki do środowiska pozakomórkowego, spełnia funkcję ochronną. Polimorfizmy tego genu mogą zmieniać jego produkt białkowy prowadząc do utraty funkcji ochronnej i zwiększonego ryzyka rozwoju chorób. Polimorfizm w pozycji T–129C może wpływać na powstawanie mRNA, a tym samym prowadzić do zmiany ilości/aktywności glikoproteiny P.

Celem pracy była ocena polimorfizmu w regionie promotorowym genu *ABCB1* w pozycji T–129C u pacjentów z gruczolakorakiem żołądka.

Materiał i metody: Materiał do badania stanowiło 19 skrawków tkankowych pobranych od pacjentów z gruczolakorakiem żołądka oraz 68 prób krwi obwodowej pobranych od zdrowych krwiodawców. Genotypowanie w pozycji

Adres do korespondencji: dr hab. Ewa Balcerczak prof. nadzw. UM, Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki, Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej, Międzywydziałowa Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90–151 Łódź; tel/fax: 42 677 91 30; e-mail: ewa.balcerczak@umed.lodz.pl

T-129C przeprowadzono za pomocą techniki polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych.

Wyniki: Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupą pacjentów z rakiem żołądka a grupą osób zdrowych.

Wnioski: Polimorfizm w pozycji T-129C regionu promotorowego genu *ABCB1* nie ma związku z rozwojem raka żołądka. Uzyskane w pracy wyniki badań wymagają potwierdzenia na większej grupie pacjentów.

Słowa kluczowe: rak żołądka, polimorfizm, region promotorowy, T-129C, *ABCB1*.

Abstract

Introduction: Gastric cancer is one of the most common tumors in the world. The pathogenesis of this cancer is not fully known. Among the risk factors for the disease there are: *Helicobacter pylori* infection, diet, alcohol consumption and smoking. On the other hand, it is assumed that the pathogenesis of the development is related to interdependence between risk factors and patient's genetic susceptibility. One of the genes involved in carcinogenesis can be *ABCB1*, whose protein product, P-glycoprotein, plays a protective function by removing xenobiotics from the cell into the extracellular environment. Polymorphisms of this gene can alter the protein product, leading to the loss of protective function and the increased risk of diseases development. Polymorphism T-129C can influence the formation of mRNA and thus, lead to changes in the quantity/activity of P-glycoprotein.

The aim of this study was to evaluate the polymorphism at position T-129C in promoter region of *ABCB1* gene in the group of patients with gastric adenocarcinoma.

Material and methods: The material for the study consisted of 19 samples of the tissue taken from patients with gastric adenocarcinoma and 68 samples of peripheral blood taken from healthy donors. Genotyping of the T-129C was performed by using restriction fragments polymorphism method.

Results: No statistically significant differences between the group of patients with gastric cancer and the healthy individuals were found.

Conclusions: The polymorphism on position T-129C in promoter region of *ABCB1* gene did not affect the risk of the development of gastric cancer. The obtained results require confirmation by investigating a large cohort of patients.

Key words: gastric cancer, polymorphism, promoter region, T-129C, *ABCB1*.

Wstęp

Rak żołądka jest jedną z najczęstszych chorób nowotworowych na świecie. Patogeneza tego nowotworu nie została w pełni poznana. Za czynniki ryzyka rozwoju raka żołądka uznaje się zakażenie *Helicobacter pylori*, dietę bogatą w pożywienie o wysokiej zawartości soli oraz azotanów a ubogą w owoce i warzywa, spożywanie alkoholu czy palenie tytoniu. Z drugiej strony, zakłada się, iż patogeneza rozwoju choroby jest związana ze współzależnością pomiędzy wskazywanymi czynnikami ryzyka a predyspozycją genetyczną samego pacjenta w tym genów, których produkty białkowe są zaangażowane w usuwanie toksycznych/kancerogennych substratów z komórek [1, 2]. Przykładem takiego genu może być, zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 7 (7q21.12), *ABCB1* [3]. Jego produktem jest glikoproteina P (P-gp), która działa jak ATP-zależna pompa błonowa. Jej zadaniem jest usuwanie ksenobiotyków z komórek do środowiska pozakomórkowego [4]. Glikoproteina P występuje w komórkach wielu prawidłowych tkanek takich, jak kora nadnerczy, nerki, jelita, płuca, żołądek, łożysko, a także wspomaga funkcjonowanie bariery krew-mózg [5]. Pełni prawdopodobnie funkcje ochronną przed ksenobiotykami transportując je do środowiska pozakomórkowego, np. chroni nerki przed toksycznymi substancjami zawartymi w przesączu kłębuszkowym [6, 7].

Badania nad genem *ABCB1* zaowocowały zidentyfikowaniem ponad 50 polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (ang. *single nucleotide polymorphism* – SNP) [8, 9], w tym także polimorfizmów w regionie promotorowym genu. Jednym z nich jest polimorfizm w pozycji T-129C (rs3213619), prowadzący do zamiany tyminy na cytozynę [10]. Prawdopodobnie, badany w pracy SNP T-129C ma wpływ na powstawanie mRNA, a tym samym na zmianę ilości/aktywności P-gp. Tanabe i wsp.

wykazali u nosicieli allelu C dla SNP T-129C niższą ilość łożyskowej glikoproteiny P niż u osób z allelem T [11]. Natomiast, Koyama i wsp. wykazali wyższy poziom P-gp u osób będących homozygotami TT niż u osób będących heterozygotami CT [12].

Celem pracy była ocena polimorfizmu w regionie promotorowym genu *ABCB1* w pozycji T-129C u pacjentów z gruczolakorakiem żołądka oraz porównanie częstości rozkładu poszczególnych genotypów i alleli uzyskanych w grupie pacjentów z rakiem żołądka z grupą osób zdrowych, co zgodnie z naszym stanem wiedzy jest pierwszą tego typu analizą zarówno w Polsce, jak i na świecie.

Materiał i metody

Materiał do badania stanowiło 19 skrawków tkankowych raka żołądka pobranych od pacjentów (7 kobiet, 12 mężczyzn; średnia wieku w grupie: 67 lat) śródoperacyjnie. U pacjentów w badaniu histopatologicznym, przeprowadzonym przez Zakład Patologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, stwierdzono gruczolakoraka o typie jelitowym wg klasyfikacji Laurena. Dodatkowo, u 12 z 19 pacjentów poza marginesem tkanki nowotworowej pobrano skrawki tkankowe uznane makroskopowo za zdrowe. Wszystkie pobrane próby tkanki zamrożono w ciekłym azocie i przechowywano w -76°C . Charakterystykę grupy pacjentów z rakiem żołądka przedstawiono w Tabeli 1.

Grupę osób zdrowych stanowiło 68 prób (44 kobiety, 24 mężczyzn; średnia wieku w grupie – 33 lata) pełnej krwi obwodowej pobranych od dobrowolnych dawców krwi z Wojewódzkiej Stacji Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Łodzi. Badanie zostało przeprowadzone zgodnie z zasadami Deklaracji Helsińskiej oraz zostało zaakceptowane przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (RNN/285/13/KE; RNN/195/13/KE).

Tabela 1. Charakterystyka grupy pacjentów z rakiem żołądka.

Table 1. Characteristics of patients with gastric cancer.

	Klasyfikacja TNM				Stopień histologicznej złośliwości – G		
	TIS	I	II	III	G1	G2	G3
Liczba przypadków	2	7	8	2	9	8	2

TNM – guz, węzeł, przerzuty (ang. *tumor; nodes; metastases*)

TIS – *tumor in situ*

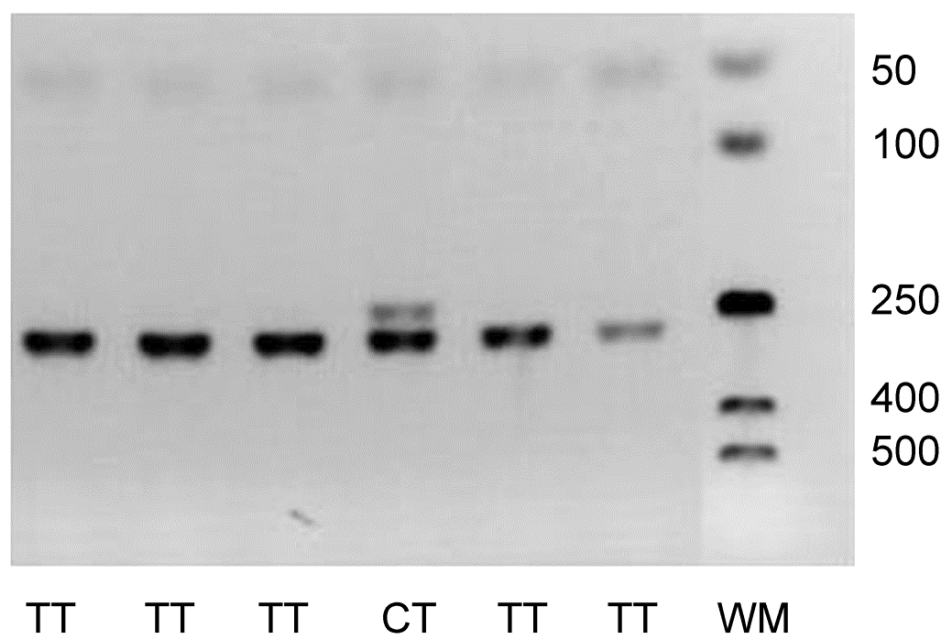
Izolacja DNA

DNA z pobranego materiału wyizolowano zgodnie z protokołem; „Genomic DNA” (A&A Biotechnology, Gdynia, Polska). Stężenie oraz czystość wyizolowanego DNA sprawdzono spektrofotometrycznie. Próby DNA przechowywano w temperaturze -20°C .

Reakcja PCR – Reakcja łańcuchowa polimerazy (ang. *polymerase chain reaction*)

Reakcje PCR dla polimorfizmu w pozycji T-129C genu *ABCB1* przeprowadzono zgodnie z protokołem: „Jump Start™ AccuTaq™ LA DNA Polymerase Kit” (Sigma Aldrich, Niemcy). Mieszanina reakcyjna składała się z: 2 μL buforu 10x PCR; 1,2 μL jonów MgCl_2 (stężenie wyjściowe 25 mM); 0,7 μL każdego z starterów (F 5' TTTCACACTTGCCCTTCTAGAG 3'; R 5' CGGCCTCTGCTTCTTTGAG 3'); 0,4 μL mieszaniny dNTP3 (stężenie wyjściowe 10 mM); 0,2 μL polimerazy Jump Start AccuTaq (stężenie wyjściowe 2,5 unit/ μL); 1 μL matrycowego DNA oraz wody destylowanej do końcowej objętości 20 μL . Dla każdej reakcji PCR oprócz właściwych próbek przygotowano kontrolę negatywną do której zamiast badanego DNA dodano 1 μL wody destylowanej. Produkty reakcji PCR oceniono za pomocą

elektroforezy w 2% żelu agarozowym. Wielkość produktu reakcji dla SNP w pozycji T-129C wynosiła 258 par zasad (pz) (ryc. 1).



Ryc. 1. Przykładowy rozdział elektroforetyczny w 2% żelu agarozowym produktu trawienia enzymem restrykcyjnym *MspAII* dla polimorfizmu w pozycji T-129C w grupie osób zdrowych [WM – wzorzec masy molekularnej PerfectPlus 50–500bp DNA Ladder (EURx, Polska)].

Fig. 1. The example of electrophoresis result of the product after restriction enzyme digestion *MspAII* for a polymorphism in the T-129C in 2% agarose gel in a group of healthy individuals [WM – molecular weight Perfect Plus 50–500 bp DNA Ladder (EURx, Poland)].

Polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (ang. *restriction fragment length polymorphism* – RFLP)

Genotypowanie dla polimorfizmu w pozycji T-129C przeprowadzono za pomocą techniki RFLP. W tym celu produkt zamplifikowany w reakcji PCR trawiono enzymem restrykcyjnym *MspAII* (New England, USA) przez 16 h w temperaturze 37°C. Mieszanina reakcyjna składała się z: 16 µL produktu reakcji PCR; 0,1 µL enzymu *MspAII* (stężenie wyjściowe 10 000 units/mL); 2 µL Buforu C 10x oraz wody destylowanej do końcowej objętości 20 µL. Wynik trawienia oceniono za pomocą elektroforezy w 2% żelu agarozowym (jeden prążek o wielkości 258 pz dla homozygoty TT; dwa prążki o wielkości 226 i 32 pz dla homozygoty CC oraz trzy prążki o wielkości 258, 226 i 32 pz dla heterozygoty CT) (ryc. 2).

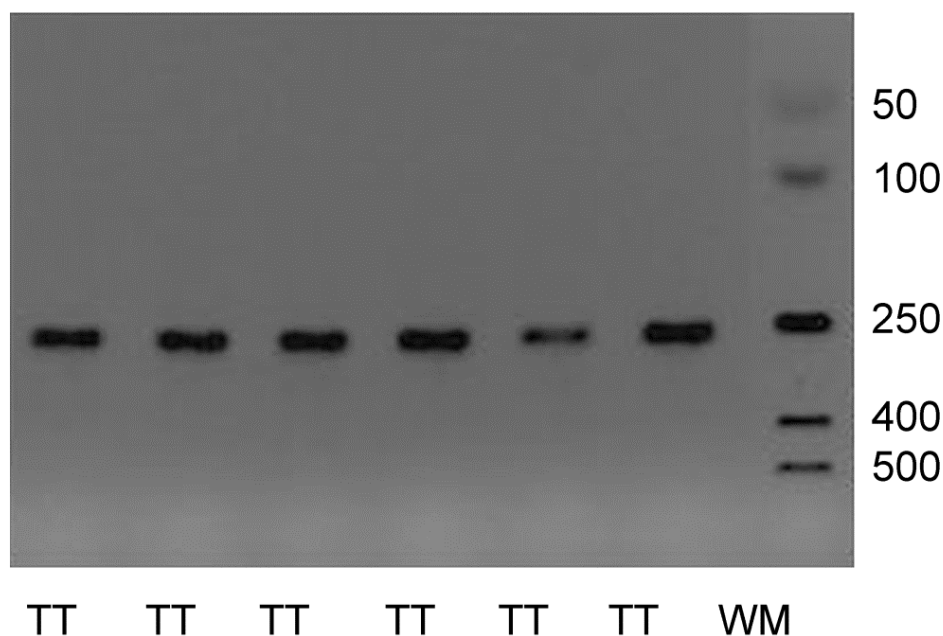
Analiza statystyczna

Wszystkie analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą programu STATISTICA (StatSoft, Inc wersja 10). W celu sprawdzenia zgodności między obserwowaną częstością występowania genotypów a częstością oczekiwaną (prawo Hardy'ego–Weinberga) w grupie kontrolnej wykorzystano test χ^2 z poprawką Yatesa. Do określenia istotności różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów pomiędzy badanymi grupami zastosowano test χ^2 z poprawką Yatesa.

We wszystkich przeprowadzonych testach za istotną statystycznie przyjęto wartość $p < 0,05$.

Wyniki

W pracy przebadano 68 prób DNA wyizolowanego z pełnej krwi obwodowej osób zdrowych oraz 19 prób DNA wyizolowanego ze skrawków tkankowych pobranych śródoperacyjnie od pacjentów z rakiem żołądka. Dodatkowo, analizie poddano także 12 prób DNA wyizolowanego ze skrawków tkankowych uznanych makroskopowo za zdrowe, a pobranych poza marginesem tkanki nowotworowej.



Ryc. 2. Przykładowy rozdział elektroforetyczny w 2% żelu agarozowym produktu trawienia enzymem restrykcyjnym *MspAII* dla polimorfizmu w pozycji T-129C w grupie pacjentów z rakiem żołądka. [WM – wzorzec masy molekularnej PerfectPlus 50–500bp DNA Ladder (EURx, Polska)].

Fig. 2. The example of electrophoresis result of the product after restriction enzyme digestion *MspAII* for a polymorphism in the T-129C in 2% agarose gel in a group of gastric cancer patients [WM – molecular weight Perfect Plus 50–500 bp DNA Ladder (EURx, Poland)].

Rozkłady genotypów dla polimorfizmu w pozycji T-129C w grupie osób zdrowych były zgodne z prawem Hardy'ego-Weinberga ($p = 0,6118$). W grupie pacjentów z rakiem żołądka, ze względu na fakt, iż uzyskano tylko jeden rodzaj genotypu, nie przeprowadzono oceny zgodności z prawem Hardy'ego-Weinberga.

Na podstawie makroskopowej oceny dokonanej śródoperacyjnie, materiał badany pochodzący od pacjentów z rakiem żołądka podzielono na dwie podgrupy, które nazwano: tkanka nowotworowa grupy pacjentów z rakiem żołądka oraz tkanka makroskopowo zdrowa grupy pacjentów z rakiem żołądka. W pierwszym etapie porównano częstość występowania poszczególnych genotypów i alleli SNP T-129C genu *ABCB1* pomiędzy grupą osób zdrowych a tkanką nowotworową grupy pacjentów z rakiem żołądka. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic ($p = 0,9128$; $p = 0,9133$). Stwierdzono, iż dominującym genotypem w obu grupach jest homozygota TT (97% – grupa osób zdrowych; 100% – tkanka nowotworowa grupy pacjentów z rakiem żołądka). Następnie, porównano częstość występowania genotypów oraz alleli dla polimorfizmu T-129C pomiędzy grupą osób zdrowych a tkanką makroskopowo zdrową grupy pacjentów z rakiem żołądka. W przypadku tej analizy także nie wykazano istotnych statystycznie różnic ($p = 0,6083$; $p = 0,6902$) (Tabela 2).

Dyskusja

Celem pracy była ocena polimorfizmu w pozycji T-129C w regionie promotorowym genu *ABCB1* u pacjentów z gruczolakorakiem żołądka, a także porównanie częstości rozkładu poszczególnych genotypów i alleli uzyskanych w grupie pacjentów z rakiem żołądka z grupą osób zdrowych.

W prezentowanym badaniu dominującym genotypem była homozygota TT, która w przypadku grupy pacjentów z rakiem żołądka występowała z częstością równą 100%. W obu analizowanych grupach nie wykryto homozygoty CC (Tabela 2). Uzyskane wyniki były zbliżone do wyników w populacji polskiej (CC 0%; CT 6,5%; TT 93,5%) [13], francuskiej (CC 0%; CT 8%; TT 92%) [14] czy irańskiej (CC 0%; CT 5,5%; TT 94,5%) [15], natomiast różniły się od wyników uzyskanych w populacji japońskiej (CC 1,3%; CT 8,4%; TT 90,3%) [16], u której wykazano obecność homozygoty CC (ryc. 3).

Tabela 2. Porównanie częstości rozkładu genotypów i alleli dla SNP T-129C pomiędzy grupą osób zdrowych a grupą pacjentów z rakiem żołądka (tkanka makroskopowo zdrowa/tkanka nowotworowa).

Table 2. The comparison of the frequency distribution of individual genotypes and alleles for the SNP T-129C between the healthy individuals and the group of patients with gastric cancer (tissue macroscopically healthy/tumor tissue).

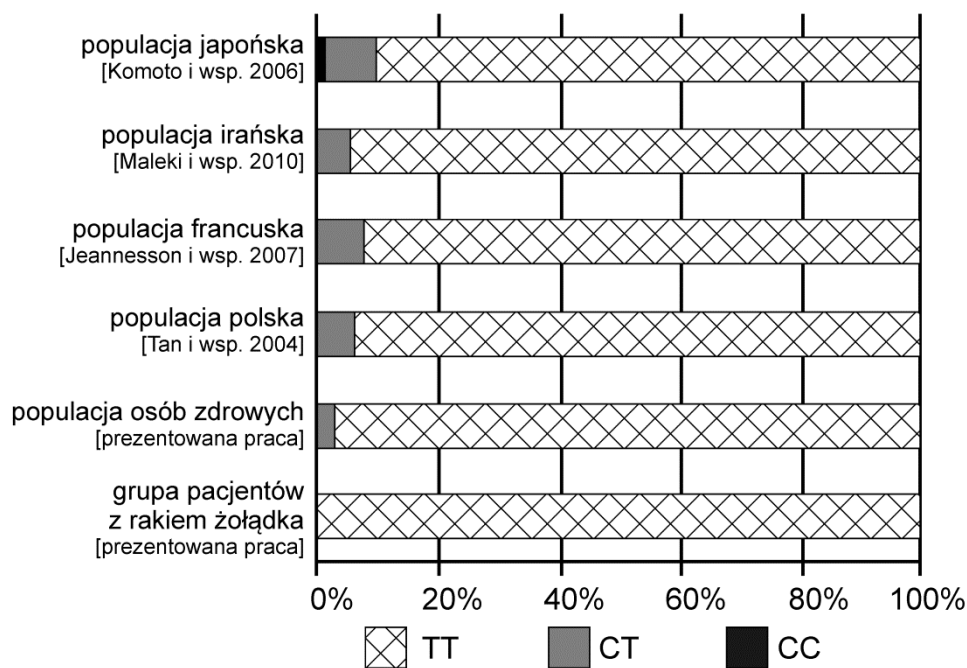
SNP T-129C	Grupa osób zdrowych (N = 68)	Grupa pacjentów z rakiem żołądka – tkanka nowotworowa (N = 19)	p (χ^2 z poprawką Yatesa)
CC	0,00%	0,00%	0,9128
CT	3,00%	0,00%	
TT	97,00%	100,00%	
C	1,50%	0,00%	0,9133
T	98,50%	100,00%	
SNP T-129C	Grupa osób zdrowych (N = 68)	Grupa pacjentów z rakiem żołądka – tkanka makroskopowo zdrowa (N = 12)	p (χ^2 z poprawką Yatesa)
CC	0,00%	0,00%	0,6083
CT	3,00%	0,00%	
TT	97,00%	100,00%	
C	1,50%	0,00%	0,6902
T	98,50%	100,00%	

Jak wiadomo, gen *ABCB1* koduje glikoproteinę P – ATP–zależne białko błonowe. Jej funkcją jest transport ksenobiotyków na zewnątrz komórki, przez co spełnia funkcję ochronną [17]. Polimorfizmy tego genu mogą zmieniać jego produkt białkowy prowadząc do utraty funkcji ochronnej i zwiększonego ryzyka rozwoju chorób. Badany w pracy polimorfizm w pozycji T–129C może wpływać na zmianę poziomu glikoproteiny P. Tanabe i wsp. wykazali, iż występowanie heterozygoty CT wiązało się z istotnie statystycznie niższym poziomem P–gp w porównaniu do występowania homozygoty TT [11]. Koyoma i wsp. wykazali obniżenie poziomu P–gp związane z obecnością heterozygoty CT dla SNP T–129C zarówno w grupie pacjentów z gruczolakorakiem jelita grubego, jak i w grupie osób zdrowych [12]. Natomiast, Llaudo i wsp. pokazali, iż SNP T–129C nie ma wpływu na aktywność glikoproteiny P [18].

Poprzez porównanie wyników genotypowania *ABCB1* pomiędzy grupą pacjentów z rakiem żołądka a grupą osób zdrowych oceniano, czy SNP w pozycji T–129C jest potencjalnym czynnikiem zwiększającym ryzyko rozwoju raka żołądka. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic (Tabela 2). Zatem, polimorfizm SNP T–129C nie ma związku z rozwojem raka żołądka. Podobne wyniki uzyskali także Komoto i wsp., gdzie nie wykazali istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupą osób zdrowych a grupą pacjentów z rakiem przełyku lub z grupą pacjentów z rakiem jelita grubego [16].

Z drugiej strony, sugeruje się, iż występowanie genotypu TT dla SNP T–129C jest związane ze wzrostem ilości glikoproteiny P, a co za tym idzie ze zwiększonym usuwaniem toksycznych ksenobiotyków z komórek do środowiska pozakomórkowego. Zatem, być może dominująca obecność homozygoty TT w obu grupach badanych w prezentowanej pracy jest związana z fizjologiczną funkcją ochronną glikoproteiny P.

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki wymagają potwierdzenia zarówno na większej grupie pacjentów z rakiem żołądka, jak i grupie osób zdrowych.



Ryc. 3. Porównanie częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli polimorfizmu w pozycji T-129C uzyskanych w pracach z innymi populacjami [13-16].

Fig. 3. The comparison the prevalence of individual genotypes and alleles of the T-129C obtained for studied groups with other populations [13-16].

Projekt współfinansowany ze środków statutowych Zakładu Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej 503/3-015-02/503-01 oraz Nowego zadania badawczego Wydziału Farmaceutycznego 502-03/3-015-02/502-34-049.

Piśmiennictwo

1. Compare D, Rocco A, Nardone G. Risk factors of gastric cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013; 14: 302–308.
2. Saghier AA, Kabanja JH, Afreen S, Sagar M. Gastric Cancer: Environmental Risk Factors, Treatment and Prevention. *J Carcinogene Mutagene.* 2013; S14: 008. doi:10.4172/2157–2518.S14–008.
3. Panczyk M, Sałagacka A, Mirowski M. Gen *MDR1 (ABCB1)* kodujący glikoproteinę P (P-gp) z rodziny transporterów błonowych ABC: znaczenie dla terapii i rozwoju nowotworów. *Postępy Biochem.* 2007; 53: 361–373.
4. Piwkowska A. Rola transporterów ABC w nerkowym wydalaniu organicznych anionów i leków. *Postępy Biochem.* 2008; 54: 284–293.
5. Lenart K, Szyda A, Kiełbasiński M. Kliniczne skutki oporności wielolekowej w nowotworach. *Oncol Clin Pract.* 2005; 1: 18–26.
6. Jamroziak K, Kowalczyk M, Robak T. Białko oporności raka piersi ABCG2 (BCRP/MXR/ABCP) nowy transporter z nadrodziny ABC związany z opornością wielolekową. *Acta Haematol Pol.* 2002; 33: 403–416.
7. From MF. Genetically determined differences in P-glycoprotein function: implications for disease risk. *Toxicology.* 2002; 181–182: 299–303.
8. Fromm MF. The influence of MDR1 polymorphisms on P-glycoprotein expression and function in humans. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002; 54: 1295–1310.
9. Cascorbi I, Gerloff T, Johne A, Meisel C, Hoffmeyer S, Schwab M i wsp. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 69: 169–174.
10. Fung KL, Gottesman MM. A synonymous polymorphism in a common M-DR1 (*ABCB1*) haplotype shapes protein function. *Biochim Biophys Acta.* 2009; 1794: 860–871.
11. Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y i wsp. Expression of P-glycoprotein in Human Placenta: Relation to Genetic Polymorphism of the Multidrug Resistance (MDR)-1 Gene. *JPET.* 2001; 297: 1137–1143.
12. Koyama T, Nakamura T, Komoto C, Sakeada T, Taniguchi M, Okamura N i wsp. MDR1 T-129C Polymorphism can be Predictive of Differentiation, and Thereby Prognosis of Colorectal Adenocarcinomas in Japanese. *Biol Pharm Bull.* 2006; 29: 1449–1453.
13. Tan EK, Drozdziak M, Bialecka M, Honczarenko K, Klodowska-Duda G, Teo YY i wsp. Analysis of MDR1 haplotypes in Parkinson's disease in a white population. *Neurosci Lett.* 2004; 6: 240–244.

14. Jeannesson E, Albertini L, Siest G, Gomes AM, Ribeiro V, Aslanidis C i wsp. Determination of *ABCB1* polymorphisms and haplotypes frequencies in a French population. *Fundam Clin Pharmacol*. 2007; 21: 411–448.
15. Maleki M, Sayyah M, Kamgarpour F, Karimipour M, Arab A, Rajabi A i wsp. Association between *ABCB1*-T1236C polymorphism and drug-resistant epilepsy in Iranian female patients. *Iran Biomed J*. 2010; 14: 89–96.
16. Komoto C, Nakamura T, Sakeada T, Kroetz D.L, Yamada T, Omatsu H i wsp. MDR1 Haplotype Frequencies in Japanese and Caucasian, and in Japanese Patients with Colorectal Cancer and Esophageal Cancer. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2006; 21: 126–132.
17. Hübner C, Petrmann I, Browning B.L, Shelling AN, Ferguson LR. Triallelic Single Nucleotide Polymorphisms and Genotyping Error in Genetic Epidemiology Studies: MDR1 (*ABCB1*) G2677T/A as an Example. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16: 1185–1192.
18. Llaudo I, Colom H, Giemenez-Bonafe P, Torras J, Caldes A, Sarrias M i wsp. Do drug transporter (*ABCB1*) SNPs and P-glycoprotein function influence cyclosporine and macrolides exposure in renal transplant patients? Results of the pharmacogenomic substudy within the symphony study. *Transplant International*. 2013; 26: 177–186.