



BIULETYN
Wydziału Farmaceutycznego
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Biul. Wydz. Farm. WUM, 2011, 3, 34-40
<http://biuletynfarmacji.wum.edu.pl/>

FUNKCJE TRANSPORTERÓW TYPU ABC

Magdalena Bamburowicz-Klimkowska*, Urszula Bogucka, Mirosław M. Szutowski

Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

* autorka korespondująca: tel. +22 5720760, e-mail: mjbamburowicz@wum.edu.pl

Otrzymany 22.06.2011, zaakceptowany 01.09.2011, zamieszczony 21.11.2011

STRESZCZENIE

Różne rodzaje transporterów obecnych w organizmie wpływają na losy leków w ustroju poprzez udział w procesach ich absorpcji, dystrybucji i eliminacji. Białka te między innymi biorą udział w dwukierunkowym transporcie substancji egzogennej i endogennej przez ściany jelita cienkiego, przewodów żółciowych i bariery krew-mózg. W polifarmakoterapii transportery typu ABC obecne w ścianie jelita mogą determinować biodostępność, szybkość i kierunek transportu oraz być przyczyną występowania interakcji pomiędzy przyjmowanymi lekami. Glikoproteina P (Pgp) produkt ekspresji genu MDR1 należy do najbardziej znaczących transporterów typu ABC pod tym względem. Jej dystrybucja tkankowa i narządowa posiada bardzo istotny wpływ na wchłanianie ksenobiotyków, a interakcje leków z tym białkiem mogą prowadzić do zmian biodostępności leków stosowanych jednocześnie. Omówiono poszczególne podrodziny transporterów typu ABC ze szczególnym uwzględnieniem ich funkcji.

SŁOWA KLUCZOWE: transportery ABC, glikoproteina P

ABSTRACT

FUNCTIONS OF ATP-BINDING CASSETTE (ABC) TRANSPORTERS

Several types of transporters present in the body control the fate of drugs by affecting uptake, distribution, and elimination processes. Among other functions, these proteins mediate the influx and efflux of endogenous as well as exogenous substances across the membranes of the small intestine, bile duct, and blood-brain barrier. In polypharmacotherapy, ATP-dependent transporters (ATP-binding cassette [ABC] transporters) expressed on the apical membrane of intestinal epithelial cells determine oral bioavailability, intestinal efflux clearance, and drug-drug interactions of certain xenobiotics. P-glycoprotein (Pgp), product of the human *MDR1* gene, is one of the most important proteins belonging to the ABC transporter superfamily. The tissue and organ distribution of Pgp significantly affects the uptake of xenobiotics, and interactions of drugs with this protein may alter bioavailability of other drugs that are administered simultaneously. The subfamilies of ATP-dependent efflux transporters are discussed, with emphasis on their functions.

KEYWORDS: ATP-binding cassette [ABC] transporters, P-glycoprotein

Transportery wiążące ATP (ABC) są to wielodomenowe białka błonowe, wykorzystujące energię z hydrolizy ATP do translokacji substancji przez błonę komórek wszystkich organizmów żywych. Należą one do jednej z największych rodzin białkowych i mają duże znaczenie w wielu ważnych zjawiskach fizjologicznych, np. oporności komórek nowotworowych czy drobnoustrojów patogennych na leki. Poprzez transport cząsteczek takich jak jony, węglowodany, aminokwasy, witaminy, peptydy, polisacharydy, hormony, tłuszcze i ksenobiotyki są zaangażowane w różnorodne procesy komórkowe: utrzymanie homeostazy osmotycznej, absorpcję składników pokarmowych, odporność na ksenotoksyny, procesy antygenowe, podział komórki, indukowanie odporności bakterii [1].

Budowa tych transporterów pozostała wysoce konserwatywna w obrębie trzech królestw *Archea*, *Eubacteria* i *Eucarya*. Ich powszechne występowanie oraz pierwotne pochodzenie odzwierciedlają podstawowe wymaganie homeostazy komórkowej - pobieranie i gromadzenie niezbędnych składników odżywczych, a także usuwanie toksyn pobranych ze środowiska lub powstałych w wyniku procesów metabolicznych [2]. Budowa transporterów ABC jest ściśle podporządkowana pełnionym przez nie funkcjom i wykazy-

wanym właściwościami. W swej sekwencji aminokwasowej białka te posiadają zawsze miejsca przyłączania ATP (*Walker A i B motifs*) odseparowane - 90-120 aminokwasami [3], występujące w obrębie cytozolowej domeny wiążącej nukleotydy (NBD, *nucleotide-binding domain*) oraz kilka (6-11) tandemowych powtórzeń domen transbłonowych o charakterze hydrofobowym, przybierających formy α -helis lub segmentów, które rozciągając się w poprzek błony tworzą kanały do transportu substratów (TMDs, *transmembrane domains*). Sekwencje te są ułożone naprzemiennie [3,4]. Ponadto w obrębie domeny wiążącej występuje sekwencja „LSGGQ” [5] charakterystyczna dla wszystkich dotąd poznanych transporterów ABC. Domeny NBD funkcjonują jako swego rodzaju „silniki” molekularne, które przetwarzają energię potencjalną wiązań chemicznych ATP na zmiany konformacyjne białka. Domeny TMD odpowiadają za przyłączanie substratów i ich efluks [6]. W organizmach eukariotycznych większość transporterów należących do rodziny ABC ma zazwyczaj 4 domeny. Na przykład glikoproteina P posiada strukturę: NH₂-TMD1-NBD1-TMD2-NBD2-COOH. Istnieje również niewielka grupa białek ABC, określanych jako półtransportery. Związki te, posiadające jedną domenę transbłonową i wiążącą nukleotydy, uzyskują aktywność

ATP-zależnej pompy tworząc dimery. Do tej grupy zalicza się m.in. białko oporności raka piersi (BRCP, *breast cancer resistance protein*): NH₂-TMD1-NBD1-COOH [7]. Prawidłową funkcjonalność transportową zapewnia obecność przynajmniej czterech podjednostek - homodimery (TMD-NBD)₂ lub heterodimery (TMD-NBD)(TMD-NBD)' [1,8].

Białka ABC przeważnie działają jednokierunkowo. U bakterii są z reguły zaangażowane w import do komórki niezbędnych związków, które nie mogą zostać pobrane na drodze dyfuzji (np. cukrów, witamin, jonów metali i in.). U eukariontów większość transporterów ABC przenosi substancje z wnętrza komórki na zewnątrz lub do organelli komórkowych (retikulum endoplazmatyczne, mitochondria, peroksysony) [3,9].

W ludzkim genomie zakodowanych jest 51 białek należących do nadrodziny ABC [3]. Na podstawie podobieństwa w strukturze genowej (półtransportery i pełne transportery), uporządkowania domen oraz homologicznych sekwencji występujących w domenach NBD i TMD, geny kodujące transportery ABC można podzielić na 7 podrodziny [10]:

- ABCA - podrodzina A (ABC1)
- ABCB - podrodzina B (MDR/TAP)
- ABCC - podrodzina C (CFTR/MRP)
- ABCD - podrodzina D (ALD)
- ABCE - podrodzina E (OABP)
- ABCF - podrodzina F (GCN20)
- ABCG - podrodzina G (White)

U człowieka mutacje w obrębie tych genów są przyczyną chorób uwarunkowanych genetycznie, m. in.: zaburzeń w przemianach cholesterolu i żółci [11], mukowiscydozy, zespołów neurologicznych, zwyrodnienia siatkówki [3,12,13,14], a także niektórych rodzajów niedokrwistości [15].

1. Podrodzina ABCA (ABC1)

Ta podrodzina zawiera 12 pełnych transporterów, które dalej podzielono na dwie podgrupy bazując na analizie filogenetycznej i strukturze intronów [10]. Pierwsza grupa jest kodowana przez geny zlokalizowane na 6 różnych chromosomach (ABCA1, ABCA2, ABCA3, ABCA4, ABCA7, ABCA12, ABCA13), natomiast 5 genów kodujących białka drugiej grupy (ABCA5, ABCA6, ABCA8, ABCA9 i ABCA10) jest zgromadzonych na chromosomie 17q24. Najlepiej poznanymi przedstawicielami tej podrodziny są białka ABCA1 i ABCA4 (ABCR). Białko ABCA1 jest zaangażowane w nieprawidłowości w transporcie cholesterolu i biosyntezę lipoprotein o dużej gęstości (HDL). Białko ABCA4 transportuje witaminę A do zewnętrznych segmentów fotoreceptorów, przez co odgrywa ważną rolę w procesie widzenia [3].

2. Podrodzina ABCB (MDR/TAP)

Wyjątkowość podrodziny ABCB polega na tym, że zawiera ona zarówno pełne transportery jak i półtransportery. Do tej podrodziny zakwalifikowano aktualnie 4 pełne transportery i 7 półtransporterów. Białko ABCB1 (MDR/PGY1), zwane inaczej glikoproteiną P, jest pierwszym ludzkim transporterem ABC, który został sklonowany i dokładnie scharakteryzowany. Izoforma MDR1 jest związana ze zjawiskiem oporności wielolekowej, podczas gdy MDR3 jest przekaźnikiem fosfatydylocholiny lub lipazą wydającą ten fosfolipid do żółci. MDR3 może też transportować substraty dla MDR1 [10]. Białka ABCB4 i ABCB11 są

zlokalizowane w wątrobie i odpowiadają za wydzielanie kwasów żółciowych. ABCB2 i ABCB3 (TAP) to półtransportery, tworzące heterodimery i transportujące do wnętrza retikulum endoplazmatycznego peptydy, które są prezentowane jako antygeny w kontekście białek HLA klasy I. Najbliższym homologiem białek TAP jest zlokalizowany w lizosomach półtransporter ABCB9. Pozostałe 4 półtransportery (ABCB6, ABCB7, ABCB8, ABCB10) umiejscowione są w mitochondriach, gdzie biorą udział w metabolizmie żelaza i odpowiadają za transport prekursorów białek Fe/S [3].

2.1 Glikoproteina P (Pgp)

Glikoproteina P (inaczej glikoproteina P1, białko oporności wielolekowej, zwana też MDR1), jest błonowym białkiem transportującym o masie 170kDa, zbudowanym z 1280 reszt aminokwasowych tworzących dwie homologiczne wewnątrz błonowe części (N-końcową i C-końcową), które połączone są krótkim regionem wiążącym. Region wiążący posiada wiele miejsc fosforylacji. Pierwsza zewnątrz-błonowa pętla białkowa jest glikozylowana. Domeny śród-błonowe są w stosunku do siebie zorientowane w taki sposób, że tworzą kanał zwany również miejscem substratowym [16]. Pgp występuje w postaci wielu izoform, które mają 70% zbieżność w budowie. Pgp jest kodowana przez małą rodzinę wysokospokrewnionych genów - u ludzi są to dwa geny oporności wielolekowej MDR1 i MDR3 - ten ostatni przez niektórych autorów określany jest jako MDR2. Według HUGO - *Human Genes Mapping Organization*, geny MDR noszą nazwy ABCB1 i ABCB4. U szczurów są to geny *mdr1a* i *mdr1b* [17]. Gen MDR znajduje się na długim ramieniu chromosomu 7 (7QD21) [10].

Postać prekursorowa Pgp, tzw. pre-Pgp, jest białkiem o ciężarze 140kD pozbawionym właściwych funkcji. „Dojrzała” i aktywna glikoproteina P (postać klasyczna), powstaje w wyniku kilku procesów: glikozylacji, fosforylacji oraz hydrolizy ATP. Drugi z wymienionych procesów jest następstwem pobudzenia kinazy C i prawdopodobnie także kinazy A, zależnej od cAMP [12].

Wzmocniona ekspresja glikoproteiny P w błonach komórek nowotworowych jest główną przyczyną oporności wielolekowej tych komórek. Glikoproteinę P oraz kodujący ją gen MDR1 wykryto nie tylko w lekoopornych komórkach nowotworowych [13]. Wysoki poziom ekspresji glikoproteiny P obserwuje się w komórkach endotelialnych bariery krew/mózg, rdzeniu nadnerczy, rdzeniu nerki, wątrobie, trzustce, płucach, nerkach [19] i różnych odcinkach jelita: okrężnicy, jelicie czczym, odbytnicy [20]. Pgp wpływa na klirens ksenobiotyków i leków transportując je na zewnątrz komórki wbrew gradientowi stężeń z wykorzystaniem ATP. Czołową funkcją tego białka jest zapobieganie wchłonięciu toksyn ze światła jelita, przewodów żółciowych, kanalików nerkowych, nadnerczy do krwi oraz ochrona najważniejszych dla życia i zdrowia organów, takich jak mózg, płyn mózgowy - rdzeniowy, jądra, płód, szpik kostny [22]. Pgp wpływa tym samym na właściwości farmakologiczne leków i ich metabolitów, modyfikując ich biodostępność po podaniu doustnym. Przykłady leków stanowiących modulatory aktywności glikoproteiny P zestawiono w Tabeli 1.

Fizjologiczne funkcje glikoproteiny P obejmują także udział w barierach przepuszczalności np. barierze krew-mózg, krew-mocz, krew - łożysko, krew - jądra oraz krew - komórki jajowe [22] oraz barierze krew - komórki endote-

Tabela 1. Zestawienie przykładowych leków stanowiących modulatory aktywności glikoproteiny P, wg [18,21,22].

Grupa leków	Lek
Leki przeciwnowotworowe	Daunorubicyna, Doksorubicyna, Docetaksel, Etopozyd, Cis-platyna, Cytanabina, Fluorouracyl, Irinotekan, Metotreksat, Mitomycyna C, Mitoksantron, Paklitaksel, Tamoksifen, Tenopozyd, Topotekan, Winblastyna, Winkrystyna
Antybiotyki i chemioterapeutyki	Grepafloksacynato są chemioterapeutyki, Cefazolina, Cefoperazon, Erytromycyna, Lewofloksacyna, Ryfampicyna
Leki przeciwwymiotne	Domperidon, Ondasetron
Leki nasercowe	Amiodaron, Celiprolol, Chinidyna, Digitoksyna, Digoksyna, Propafenon
Blokery kanału wapniowego	Diltiazem, Felodypina, Mibefradil, Nikardypina, Nitrendypina, Werapamil
β -blokery	Bunitrolol, Celiprolol, Talindolol
Leki działające na ośrodkowy układ nerwowy	Lewopromazyna, Fenoksazyna, Fenytoina, Perfenazyna, Protryptylina, Risperidon
Leki przeciwhistaminowe	Feksofenadyna, Terfenadyna, Cymetydyna, Ranitydyna
Inhibitory pompy protonowej	Omeprazol, Pentaprazol
Inhibitory proteazy HIV	Aprenawir, Amprenawir, Atezanawir, Fosamprenawir, Indanawir, Lopinawir, Nelfinawir, Ritonawir, Sequinawir, Tipranawir
Leku immunosupresyjne	Cyklosporyna A, Metyloprednizolon, Prednizolon, Sirolimus, Takrolimus
Statyny	Atorwastatyna, Lowastatyna, Simwastatyna
Opiaty	Fentanyl, Metadon, Morfina, Loperamid
Steroidy	Aldosteron, Deksametazon, Estradiol, Hydrokortyzon, Kortyzol
Leki przeciwgrzybicze	Itrakonazol, Ketokonazol, Klotromazol, Sparfloksacyna

lium ucha wewnętrznego [23]. Sugerowano udział tego transportera w przenoszeniu steroidów [24]. Dość wysoką ekspresję glikoproteiny P stwierdzono w chondrocytach znajdujących się w rejonach szkieletu, które ulegają mineralizacji [25].

Badania z zastosowaniem radioligandów wykazały, że Pgp posiada od 2 do 4 miejsc wiążących substraty. Dwa różne substraty mogą być wiązane w tym samym czasie, a różne miejsca wiążące mogą wiązać te same substraty lub mogą być powiązane allosterycznie. Tak więc miejsca wiążące substraty mogą wpływać jednocześnie na transport i na modulowanie wiązania substratów oraz mają możliwość zmiany konformacji w celu przyłączenia inhibitora zamiast substratu [10]. Glikoproteina P posiada szeroką specyficzność substratową, rozpoznaje setki związków o bardzo różnej budowie i właściwościach fizykochemicznych, o masie od 330 do 4000 Da. Jednak większość substratów Pgp to związki o charakterze hydrofobowym, dobrze rozpuszczalne w tłuszczach, przez co mające wysokie powinowactwo do lipidowej mozaiki błon komórkowych. Seelig [19] po przestudiowaniu struktury 100 związków będących substratami i induktorami Pgp zaproponowała podział na dwa typy związków: pierwsza grupa - związki posiadające dwa ugrupowania elektronodonorowe odseparowane odległością ok. 2,5 Å, druga grupa - posiadająca dwa lub trzy ugrupowania

elektronodonorowe w odstępnie 4,6 Å. Ciekawą właściwością glikoproteiny P jest jej zdolność do przenoszenia bardzo różnych związków hydrofobowych o cząsteczkach nadekstrakcyjnych dodatnio lub nie posiadających ładunku elektrycznego [22]. Zaproponowano dwa modele opisujące mechanizm transportu dla Pgp: model wiązania ATP i model hydrolizy ATP. Modele te różnią się między sobą w poglądzie na mechanizm doprowadzający do zmiany wysokiego powinowactwa substratu do proteiny na powinowactwo mniejsze pozwalające na wyrzut substratu. W modelu pierwszym cykl katalityczny Pgp rozpoczyna się interakcją substratu z wysoko powinowatym miejscem wiążącym w obszarze domen transbłonowych glikoproteiny. Zjawisko to powoduje zwiększenie powinowactwa cząsteczki ATP do proteiny. Związaniu i/lub hydrolizie cząsteczki ATP w pierwszej domenie wiążącej nukleotydy towarzyszy zmiana konformacyjna centrum aktywnego w obszarze domen transbłonowych. Zmiana ta pozwala na wyrzut związanego substratu do przestrzeni pozakomórkowej. Po hydrolizie drugiej cząsteczki ATP uwolniony fosforan nieorganiczny i ADP pozwala na powrót białka do konformacji wyjściowej, gdy cząsteczka transportera jest gotowa do rozpoczęcia następnego cyklu katalitycznego [26]. Wg modelu drugiego cykl transportu zapoczątkowuje wiązanie substratu i ATP. Hydroliza ATP wyzwała zmianę konformacyjną w jednej z

domen wiążących nukleotydy, co osłabia wiązanie Pgp - substratu i pozwala na jego wyrzut. Uwolnienie nieorganicznego fosforanu i ADP pozwala cząsteczce transportera na pozostanie w konformacji spoczynkowej [10]. Zatem wiązanie ATP i/lub jego hydroliza wywołuje zmiany konformacyjne glikoproteiny. Wiązanie ATP powoduje też spadek powinowactwa Pgp do substratu.

Zaproponowano też cztery mechanizmy działania Pgp jako pompy: odkurzacz hydrofobowy, flipaza, model szczeliny, model dwucylindrowy. Odkurzacz hydrofobowy „wyłuskuje” cząsteczki hydrofobowe z wewnętrznej warstwy błony cytoplazmatycznej i wypompowuje je bezpośrednio do wodnej przestrzeni pozakomórkowej. W układzie tym substrat uzyskuje dostęp do miejsca wiążącego przez „wrota” stworzone pomiędzy 5/8 a 2/11 domeną transmembranową. W modelu flipazowym substrat jest przetrzucany z wewnętrznej powierzchni mozaiki lipidowej błony przez zewnętrzną powierzchnię błony lub bezpośrednio do otoczenia pozakomórkowego.

Oba te modele są oparte o teorię zmian konformacyjnych w trzeciorzędowej strukturze glikoproteiny P, gdzie substrat osiąga dostęp do miejsca aktywnie wiążącego transportera poprzez fazę lipidową błony komórkowej. To zjawisko może być wytłumaczeniem dla szerokiej specyficzności substratowej samej Pgp. Substrat musi być zdolny do przejścia przez warstwę lipidową błony komórkowej, a potem przereagowania z miejscem wiążącym. Dalsze ważne cechy umożliwiające reakcje związku z glikoproteina P to: rozpuszczalność w tłuszczach, ładunek dodatni, możliwość tworzenia wiązań wodorowych, obecność pierścienia aromatycznego, obecność od 1 do 3 grup elektronodonorowych w odpowiednim odstępnie od siebie [10,19].

Glikoproteina P występuje w komórkach i tkankach konstytutywnie, ale jej ekspresja może być pobudzona czynnikami takimi jak: szok termiczny, cytokiny, chemioterapeutyki, promieniowanie UV, wolne rodniki tlenowe. Jest powszechnie przyjęte, że częstość występowania cząsteczek Pgp jest zależna od poziomu regulacji transkrypcji genów kodujących to białko - MDR1 mRNA. Jednak znane są czynniki pośrednio wpływające na syntezę białka Pgp poprzez stymulowanie transkrypcji genu MDR1 - czynniki transkrypcyjne GC, HSF1, AP-1, NF-IL6, NF-Y, EGR1, YB-1, MEF-1. Czynniki, które pośrednio hamują transkrypcję MDR1 to: NF-κB/p65 i cFos. Białko supresorowe p53 jest w stanie stymulować, jak i hamować transkrypcję MDR1. Czynniki szoku termicznego (HSF1) reguluje ekspresję genu MDR1 post-transkrypcyjnie przez modulowanie dojrzewania mRNA, co może zakłócić powstanie stabilnej gotowej do translacji nici RNA. Wszystkie te mechanizmy oraz fakt, że region promotorowy genu MDR1 jest atypowy (nie zawiera sekwencji promotorowej TATA) powodują, że kontrola regulacji ekspresji glikoproteiny P jest zjawiskiem złożonym. Problem ten jest ważny zwłaszcza z punktu widzenia regulacji transkrypcji genów w komórkach, w których rozwinęło się zjawisko oporności wielolekowej. Komórki te bowiem, jak się okazuje, wytwarzają nowy normalny region promotorowy genu MDR1 powodujący 100-1000-krotny wzrost ekspresji MDR1 w porównaniu z normalnymi komórkami [10]. Indukcja glikoproteiny P jest wynikiem działania wielu receptorów jądrowych, zwanych też często ksenosensorymi. Działają one jak czynniki transkrypcyjne. W odpowiedzi na działanie różnych czynników, także narażenie na

ksenobiotyk i podanie leków, następujące receptory jądrowe powodują aktywację translacji genu MDR1: PXR (*pregnane X receptor*), RXRa (*retinoid xenobiotic receptor a*), CAR (*constitutive androstane receptor*), SXR (steroid xenobiotic receptor). Ponadto receptor PXR jest zaangażowany w regulację procesów metabolizmu zachodzących przy udziale cytochromu P450 (izofর্ম CYP3A4, CYP2C8, CYP2B6) i bezpośrednio w wyrzut leków MDR1 - zależny [10,27]. Dodatkowo wywołane podanymi lekami zwiększenie ekspresji MDR1 może być modyfikowane za pomocą mechanizmów epigenetycznych. Wtedy ma miejsce acetylacja i zwiększona metylacja histonu 3 (H3) [10].

Zrozumienie mechanizmu działania transportera, jakim jest glikoproteina P, oraz procesów regulacji ekspresji genów go kodujących jest bardzo ważne ze względu na szeroko rozpowszechnione niekorzystne zjawiska związane z tym białkiem: oporność wielolekowa w chemioterapii, oporność na analogi nukleozydowe w leczeniu HIV-1, zmniejszenie biodostępności leków po podaniu doustnym, wpływ na farmakokinetykę substratów Pgp podanych doustnie, wreszcie duża ilość interakcji związanych z szeroką specyficznością substratową i pokrywaniem się jej ze specyficznością substratową cytochromu P450 CYP3A4 [28].

2.2. Glikoproteina P3 (MDR3)

Jest to transporter ABC o masie cząsteczkowej 170 kDa, kodowany przez gen *mdr3* zlokalizowany na chromosomie 7 (7q21-22), występujący głównie w hepatocytach. Niższym poziomem ekspresji cechują się: serce, nadnercza, mięśnie szkieletowe, śledziona, migdałki.

Glikoproteina P3 wykazuje duże podobieństwo sekwencji aminokwasowej z glikoproteina P1 (około 76% identyczności), pełni jednak inną funkcję: działa jako translokaza i przetrzuca fosfatydylocholinę z wewnętrznej do zewnętrznej monowarstwy lipidowej błony plazmatycznej. Jest to szczególnie istotne w kanikularnych regionach błon hepatocytów, ponieważ umożliwia wydzielenie do żółci tego lipidu. Niedobór glikoproteiny P3 objawia się w postaci dziedzicznej, progresywnej, wewnątrzwątrobowej cholestazy. Flipazowa aktywność tej struktury może sugerować, że mechanizm działania glikoproteiny P1 jest analogiczny [29,30].

2.3. Podrodzina ABCB11 (BSEP, SPGP)

SPGP - siostrzana forma glikoproteiny P, jest zlokalizowana w błonie naczyniowej hepatocytów i odpowiada za efluks kwasów żółciowych (BSEP - *bile salt export pump*). Mutacje w obrębie genu kodującego tę strukturę manifestują się jako rodzinna, postępująca, wewnątrzwątrobowa cholestaza typu drugiego [31]. Pewne źródła wskazują na sulindak - niesteroidowy lek przeciwzapalny, winblastynę oraz inhibitor HMG-CoA reduktazy - prawastatynę jako substraty dla SPGP [31].

3. Podrodzina ABCC (CFTR/MRP)

Przedstawicielami podrodziny ABCC jest 12 pełnych transporterów posiadających szerokie spektrum funkcjonalne, m.in. transport jonów czy wydzielenie toksyn. Białko CFTR tworzy kanał jonowy dla anionów chlorkowych, a mutacje w kodującym je genie wywołują zwłóknienie torbielowate [32]. Transportery ABCC8 i ABCC9 wiążą sulfonilomocznik i regulują kanały potasowe zaangażowane w

modulację wydzielania insuliny. W obrębie podrodziny ABCC wyróżniono rodzinę MRP, blisko spokrewnioną z rodziną MDR1. Zawiera ona 9 struktur. ABCC1 (MRP1), ABCC2 (MRP2) i ABCC3 (MRP3) transportują koniugaty leków z glutationem i inne aniony organiczne. Białka ABCC4 (MRP4), ABCC5 (MRP5), ABCC11 (MRP8) i ABCC12 (MRP9) są mniejsze i nie posiadają domeny N-końcowej, co nie wpływa ujemnie na ich funkcję transportową [33]. Transportery ABCC4 i ABCC5 warunkują oporność na nukleotydy, wliczając adefowir (PMEA, 9-(2-fosfonylometoksyetylo)adenina) i analogi zasad purynowych [3].

3.1. Podrodzina MRP2 (cMOAT)

Najlepiej poznanym przedstawicielem rodziny MRP jest ABCC2, zwany inaczej MRP2 lub cMOAT (*canalicular multiple organic anion transporter*, czyli kanalikowy transporter anionów organicznych). Struktura ta jest zbudowana z 1545 aminokwasów. Jej względna masa cząsteczkowa wynosi 190 kDa. Posiada 2 domeny wiążące ATP i 17 regionów transbłonowych. Kodujący ją gen znajduje się na chromosomie 10 (10q24). MRP2 znaleziono w wielu zmienionych nowotworowo tkankach i guzach pobranych od pacjentów. Jednakże występuje ona również w normalnych tkankach [34]. Najwyższej ekspresji ulega ona w wątrobie, gdzie zaangażowana jest w wydzielanie do żółci amfifilowych anionów organicznych [31]. Występuje również w rąbku szczoteczki nabłonka segmentów S1, S2 i S3 kanalikaproksymalnego w nerkach. Ekspresję MRP2 zaobserwowano również w mózgu [34], apikalnej błonie łożyska [35], barierze krew-jądra [36] oraz w błonie enterocytów [31]. Dziedziczny niedobór tego białka wywołuje zespół Dubina-Johnsona [6,34], manifestujący się hiperbilirubinemią [37].

4. Podrodzina ABCD (ALD)

Podrodzina ABCD zawiera 8 białek. Geny kodujące 4 z nich znaleziono w genomie ludzkim oraz po 2 w genomie *Drosophila* i drożdży. Wszystkie struktury białkowe należące do tej podrodziny to półtransportery znajdujące się w peroksysomach i odpowiadające za transport długocząsteczkowych kwasów tłuszczowych [3].

5. Podrodzina ABCE (OABP) i ABCF (GCN20)

Podrodziny ABCE i ABCF są reprezentowane przez białka niezawierające domen przezbłonowych i niezaangażowane w funkcje transportowe. Posiadają one tylko domeny wiążące nukleotydy, charakterystyczne dla białek ABC, stąd ich przynależność do tej nadrodziny. Podrodzina ABCE zawiera jedynie białko wiążące oligoadenylat (OABP, *oligoadenylate binding protein*), substancję produkowaną w odpowiedzi na infekcję wieloma wirusami m.in. HCV [38]. Każde białko należące do podrodziny ABCF składa się z pary domen NBD. Najlepiej scharakteryzowanymi członkami tej podrodziny są GCN20 (występujący u *S. cerevisiae*, pośredniczący w aktywacji a-kinazy fosforylującej eIF-2, oraz ludzki homolog, ABCF1, prawdopodobnie pełniący podobną rolę [3].

6. Podrodzina ABCG

Ludzka podrodzina ABCG jest złożona z 6 „odwrotnych” półtransporterów posiadających domenę wiążącą

nukleotydy umiejscowioną N-terminalnie oraz domenę przezbłonową na końcu karboksylowym. Białko ABCG1 jest zaangażowane w regulację transportu cholesterolu [39]. Pozostałymi białkami zaliczanymi do tej podrodziny są: ABCG2 - białko oporności lekowej raka piersi (BCRP); ABCG5 i ABCG8 - transportery steroli w jelicie i wątrobie; ABCG3 - do dziś znalezione tylko u gryzoni; oraz ABCG4 - ulegające najwyższej ekspresji w wątrobie [3].

6.1. Podrodzina BCRP (MXR1, ABCP)

Białko oporności raka piersi zostało początkowo wyizolowane z komórek nowotworu piersi opornego na dokso-rubicynę (MCF-7/AdrVp). Jest także znane jako ABCP (*placenta-specific ATP-binding cassette*), czyli specyficzny dla łożyska transporter ABC, z powodu jego ekspresji w tym organie [34,40] oraz jako białko oporności na mitoksantron (MXR, *mitoxantrone resistance gene*), ponieważ jego obecność wykryto w opornych na mitoksantron komórkach nowotworu okrężnicy (S1-M1-80) [41].

Struktura ta zbudowana jest z 655 aminokwasów, a jej masa cząsteczkowa wynosi 72 kDa. Koduje ją gen znajdujący się na chromosomie 4 (4q22) a mutacje w jego obrębie modulują specyficzność substratową białka [40]. W przeciwieństwie do większości transporterów ABC, posiadających 2 domeny wiążące nukleotydy i 2 domeny przezbłonowe, białko BCRP posiada tylko po jednej z nich. Ulega ono ekspresji w komórkach nowotworowych i normalnych tkankach np. jajnikach, łożysku, jelicie, wątrobie, jądrach, nerkach i mózgu. Transporter ten odgrywa ważną rolę w wątrobowej eliminacji ksenobiotyków oraz protekcji płodu przed działaniem szkodliwych substancji [31].

Nadrodzina transporterów wiążących ATP (ABC) zawiera białka błonowe, które przemieszczają wiele substratów przez błony zewnątrz- i wewnątrzkomórkowe. Zmienność genetyczna genów kodujących ten rodzaj białek może być przyczyną wielu różnych stanów patologicznych u człowieka, takich jak na przykład: zwłóknienia, choroby neurologiczne, zwyrodnienie siatkówki, zaburzenia transportu cholesterolu i żółci, anemia oraz nieprzewidywalne zmiany odpowiedzi na działanie leków z różnych grup terapeutycznych. Poznawanie pełnej charakterystyki wszystkich białek typu ABC w ludzkim genomie oraz u organizmów modelowych dostarcza istotnych informacji na temat fizjologii i molekularnych podstaw wielu chorób człowieka.

Wykaz symboli i skrótów

7QD21	- Sposób określenia lokalizacji genu na chromosomie, tu: chromosom 7 ramię długie, prążek 21
ABC	- Typ transportera błonowego (ang. <i>ATP binding cassette transporters</i>)
ABC1	- Podrodzina transporterów błonowych, obecnie ABCA
ABCP	- Podrodzina transporterów błonowych, obecnie BCRP
ABCR	- Białko transportowe (inaczej ABCA4) wchodzące w skład podrodziny transporterów ABC1
ADP	- Adenozynodifosforan lub adenozyno-5'-difosforan - związek organiczny, nukleotyd złożony z rybozy, adeniny i dwóch grup fosforanowych
ALD	- Podrodzina transporterów błonowych, obecnie ABCD

AP-1	- Kompleks białkowy, zbudowany z dimerówbiałek z rodzin Fos, Jun, ATF i Maf, który działa jako stymulujący m.in. transkrypcję genu MDR1(ang. <i>Activator protein 1</i>)	MDR/PGY1	- Białko ABCB1, glikoproteina P
ATP	- Adenozynotrifosforan - organiczny związek chemiczny, nukleotyd adeninowy zbudowany z grupy trifosforanowej przyłączonej w pozycji 5' cząsteczki adenosyny, tworząc bezwodnik kwasu fosforowego, stanowi nośnik energii chemicznej używanej w metabolizmie komórki	MDR/TAP	- Podrodzina transporterów błonowych, obecnie ABCB
BCRP	- Podrodzina transporterów błonowych, dawniej MXR1 lub ABCP	MDR1	- Ludzki gen oporności wielolekowej, wg HUGO - Human GenesMapping Organization ABCB1, także izoforma białka ABCB1 związana ze zjawiskiem oporności wielolekowej
BRCP	- Białko oporności raka piersi (ang. <i>Breast cancer resistance protein</i>)	mdr1a	- Szczurzy gen oporności wielolekowej
BSEP	- Transporter kwasów żółciowych, zwany też siostrzanym glikoproteiny P - SPGP (ang. <i>Bile salt export pump</i>)	mdr1b	- Szczurzy gen oporności wielolekowej
cAMP	- Cykliczny AMP lub 3',5'-cykliczny adenozynomonofosforan - organiczny związek chemiczny z grupy nukleotydów, fosforanowa pochodna adenosyny (cykliczny diester). Bierze udział w wielu reakcjach biochemicznych jako element transdukcji sygnału	MDR2	- Ludzki gen oporności wielolekowej, inaczej MDR3
CAR	- Receptor jądrowy odpowiedzialny za rozpoznanie obecności związków endogennych i ksenobiotyków w komórce oraz stymulację ekspresji białek odpowiedzialnych za ich metabolizm i wydalanie z komórki (ang. <i>Constitutive androstane receptor</i>)	MDR3	- Ludzki gen oporności wielolekowej, wg HUGO - human genes mapping organization ABCB4, także izoforma białka ABCB1, przenośnik fosfatydylocholiny lub lipaza wydalająca ten fosfolipid do żółci
cFos	- Czynn timeranskrypcyjny wpływający m.in. na transkrypcję genu MDR1	mdr3	- Gen kodujący białko - glikoproteinę 3
CFTR/MRP	- Podrodzina transporterów błonowych, obecnie ABCC	MEF-1	- Czynn timeranskrypcyjny stymulujący m.in. transkrypcję genu MDR1
cMOAT	- Podrodzina transporterów błonowych, obecnie MRP2, także kanalikowy transporter anionów organicznych (ang. <i>Canalicular multiple organic anion transporter</i>)	mRNA	- mRNA, matrycowy (informacyjny, przekaźnikowy) RNA(z ang. <i>Messenger RNA</i>)
EGR1	- Czynn timeranskrypcyjny stymulujący m.in. transkrypcję genu MDR1	MRP	- Podrodzina transporterów błonowych, obecnie ABCC
eIF-2	- Czynn timerancjacji	MXR	- Białko oporności na mitoksantron, także gen białka oporności na mitoksantron (ang. <i>Mitoxantrone resistance gene</i>)
GC	- Czynn timeranskrypcyjny stymulujący m.in. transkrypcję genu MDR1	MXR1	- Podrodzina transporterów błonowych, obecnie BCRP
GCN20	- Podrodzina transporterów błonowych, obecnie ABCF	NBD	- Miejsce wiążące nukleotydy, np. ATP (ang. <i>Nucleotide binding domain</i>)
H3	- Histon 3, zasadowe białko wchodzące w skład chromatyny, neutralizujące jej kwasowy charakter, o niewielkiej masie cząsteczkowej, tworzące rdzeń nukleosomu, podlegające modyfikacjom posttranslacyjnym	NF-IL6	- Czynn timeranskrypcyjny stymulujący m.in. transkrypcję genu MDR1
HDL	- Lipoproteina o dużej gęstości	NF-γ	- Czynn timeranskrypcyjny stymulujący m.in. transkrypcję genu MDR1
HIV-1	- Jeden z typów ludzkiego wirusa niedoboru odporności (ang. <i>Human immunodeficiency virus</i>)	NF-κB/p65	- Czynn timeranskrypcyjny wpływający m.in. na transkrypcję genu MDR1
HMG-CoA reduktaza	- Reduktaza 3-hydroksy-3-metyloglutarylokoenzymu A, enzymu wątrobowego, znajdującego się w cytoplazmie hepatocytów, regulującego ilość syntetyzowanego cholesterolu	OABP	- Podrodzina transporterów błonowych, obecnie ABCE, także białko wiążące oligoadenylat (ang. <i>Oligoadenylate binding protein</i>)
HSF1	- Czynn timeroku termicznego, reguluje ekspresję genu MDR1 (ang. <i>Heat shock factor protein 1</i>)	p53	- Czynn timeranskrypcyjny, regulujący wiele procesów komórkowych, a w szczególności aktywujący mechanizmy naprawy DNA lub indukcji apoptozy w odpowiedzi na uszkodzenia DNA, strażnik genomu
MCF-7/AdrVp	- Typ nowotworu piersi opornego na doksorubicynę	Pgp	- Glikoproteina P
		PMEA	- Adefovir, 9-(2-fosfonylometoksyetylo)adenina
		PXR	- Receptor jądrowy odpowiedzialny za rozpoznanie obecności ksenobiotyku w komórce oraz stymulację ekspresji białek odpowiedzialnych za detoksykację (ang. <i>Pregnane X receptor</i>)
		RXRα	- Receptor jądrowy pośredniczący w wywołaniu efektów biologicznych związanych z aktywacją ekspresji genów przez retinoidy (ang. <i>Retinoid xenobiotic receptor a</i>)
		S1-M1-80	- Typ opornego na mitoksantron nowotworu okrężnicy
		SPGP	- Transporter kwasów żółciowych, zwany siostrzanym glikoproteiny P (ang. <i>Bile salt export pump</i>)

- SXR - Receptor jądrowy pośredniczący w metabolizmie i wydalaniu leków z komórki (ang. *Steroid xenobiotic receptor*)
- TATA - Sekwencja DNA znajdująca się w wielu promotorach genów eukariotycznych, położona około 30 do 25 nukleotydów od miejsca startu transkrypcji
- TMD - Segmenty, które rozciągając się w poprzek błony tworzą kanały do transportu substratów (ang. *Transmembrane domain*)
- YB-1 - Czynniki transkrypcyjny stymulujący m.in. transkrypcję genu MDR1

11. Bibliografia

- Jones, P.M., George, A.M. „The ABC transporter structure and mechanism: perspectives on recent research”, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2004, 61, 682-699
- Schneider, E., Hunke, S. „ATP-binding-cassette (ABC) transport systems: functional and structural aspects of the ATP-hydrolyzing subunits/domains”, *Microbiology Reviews*, 1998, 22, 1-20
- Dean, M., Rzhetsky, A., Allikmets, R. „The Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Superfamily”, *Genome Research*, 2001, 11, 1156-1166
- Kast, C., Canfield, V., Levenson, R., Gros, P. „Transmembrane organization of mouse P-glycoprotein determined by epitope insertion and immunofluorescence”, *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271 (16), 9240-9248
- Bianchet, M.A., Ko, Y.H., Amzel, M., Pedersen, P.L. „Modeling of nucleotide binding domains of ABC transporter proteins based on F1-ATPase/recA topology: Structural model of the nucleotide binding domains of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)”, *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 1997, 29 (5), 503-524
- Czajka-Uhryn, M., Bednarek, I. „Interferencja RNA - nowe narzędzie molekularne w modulacji zjawiska oporności wielolekowej”, *Annales Academiae Medicae Silesiensis*, 2005, 59 (3), 209-218
- Doyle, L.A., Ross, D.D. „Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2)”, *Oncogene*, 2003, 22, 7340-7358
- Oswald, C., Holland, I.B., Schmitt, L. „The motor domains of ABC transporters: What can structure tell us?”, *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2006, 372 (6), 385-399
- Backer, J., Depret, G., Van Bambeke, F., Tulkens, P., Prevost, M. „Molecular models of human P-glycoprotein in two different catalytic states”, *BMC Structural Biology*, 2009, 9 (3), 1-18
- Hennessy, M., Spiers, J. „A primer on the mechanistic of P-glycoprotein the multidrug transporter”. *Pharmacological Research*, 2007, 55, 1- 15.
- Raggers, R.J., Pomorski, T., Holthuis, J.C.M., Kalin, N.E., Meer, G.F.B.P., Van. „Lipid traffic: The ABC of transbilayer movement”, *Traffic*, 2000, 1, 226-234
- Germann, U.A. „P-glycoprotein - a mediator of multidrug resistance in tumor cells”, *European Journal of Cancer*, 1996, 32A (6), 927-944
- Jamroziak, K., Młynarski, W., Robak, T. „Znaczenie białek transportowych nadrodziny ABC w oporności na leczenie ostrej białaczki szpikowej”, *Acta Haematologica Polonica*, 2001, 32 (2), 131-145
- Nasiłowska, B. „Geny oporności na leki”, *Postępy Nauk Medycznych*, 2003, 3-4, 99-105
- Marie, J. P. „Drug resistance and its modifications in haematological malignancies”, Degos, L., Linch, D.C., Lowenberg B. „Textbook of Malignant Haematology” 1st ed., 1999, UK, Dunitz M Ltd, 299-313
- Sigmund, W., Cascobi, I., Weitschies, W., Kroemer, H.K. „Significance of drug transporter for the internal medicine clinic”, *Internist*, 2003, 44, 219-226
- Gottesman, M.M., Ling, V. „The molecular basis of multidrug resistance in cancer: The early of P-glycoprotein research”, *FEBS Letters*, 2006, 58, 998-1006
- Pal, D., Mitra, A.K. „MDR- and CYP3A4-mediated drug-drug interactions”, *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 2006, 1 (3), 323-339
- Sellig, A. „A general pattern for substrate recognition by P-glycoprotein”, *European Journal of Biochemistry*, 1998, 251, 252-261
- Takano, M., Yumoto, R., Murakami, T. „Expression and function of efflux drug transporters in the intestine”, *Pharmacology and Therapeutics*, 2006, 109, 137-161
- Kerb, R. „Implications of genetic polymorphism in drug transporters for pharmacotherapy”, *Cancer Letters*, 2006, 234, 4-33
- Marchetti, S., Mazzanti, R., Beijnen, J.H., Schellens J.H.B. „Concise review: Clinical relevance of drug-drug and herb-drug interaction mediated by the ABC transporter ABCB1(MDR1, P-glycoprotein)”, *The Oncologist*, 2007, 12, 927-941
- Saito, T., Zhang, Z., Tokuriki, M., Ohtsubo, T., Shibamori, Y., Yamamoto, T., Saito, H. „Cyclosporin A inhibits the extrusion pump function of P-glycoprotein in the inner ear of mice treated with vinblastine and doxorubicin”, *Brain Research*, 2001, 265-270
- Kim, W.Y., Benet, L.Z. „P-glycoprotein (P-gp/MDR1)-mediated efflux of sex-steroid hormones and modulation of P-gp expression in vitro”, *Pharmaceutical Research*, 2004, 21(7), 1284-1293
- Mangham, D.C., Cannon, A., Komiya, S., Gendron, R.L., Dunussi, K., Gebhardt, M.C., Mankin, H.J., Arcenci, R.J. „P-glycoprotein is expressed in the mineralizing regions of the skeleton”, *Calcified Tissue International*, 1996, 58, 186-191
- Backer, J.P., Depret, G., Van Bambeke, F., Tulkens, P.M., Prevost, M. „Molecular models of human P-glycoprotein in two different catalytic states”, *BMC Structural Biology*, 2009, 9 (3), 1-18
- Haslam, I.S., Jones, K., Coleman, T., Simmons, N.L. „Induction of P-glycoprotein expression and function in human intestinal epithelial cells (T84)”, *Biochemical Pharmacology*, 2008, 76, 850-861
- Benet, L.Z., Cummins, C.L. „The efflux-metabolism alliance: Biochemical aspects”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, 50 (1), 3-11
- Van der Blik, A.M., Baas, F., Ten Houte de Lange, T., Kooiman P.M., Van der Velde-Koerts, T., Borst, P. „The human mdr3 gene encodes a novel P-glycoprotein homologue and gives rise to alternatively spliced mRNAs in liver”, *EMBO Journal*, 1988, 6 (11), 3325-3331
- Rosmorduc, O., Hermelin, B., Poupon, R. „MDR3 gene defect in adults with symptomatic intrahepatic and gallbladder cholesterol cholelithiasis”, *Gastroenterology*, 2001, 120 (6): 1459-67
- Kim, R.B. „Transporters and Drug Delivery: Why, When and How?”, *Molecular Pharmaceutics*, 2005, 3 (1), 26-32
- Quinton, P.M. „Physiological basis of cystic fibrosis: A historical perspective”, *Physiological Reviews*, 1999, 79, 3-22
- Borst, P., Evers, R., Kool, M., Wijnholds, J. „A family of drug transporters: The multidrug resistance-associated proteins”, *Journal of the National Cancer Institute*, 2000, 92 (16), 1295-1302
- Takano, M., Yumoto, R., Murakami, T. „Expression and function of efflux drug transporters in the intestine”, *Pharmacology and Therapeutics*, 2006, 109, 137-161
- St-Pierre, M.V., Serrano, M.A., Macias, R.I., Dubs, U., Hoehli, M., Lauper, U. i wsp. „Expression of members of the multidrug resistance protein family in human term placenta”, *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2000, 279, 1495-1503
- Bart, J., Hollema, H., Groen, H.J., de Vries, E.G., Hendrikse, N.H., Sleijfer, D.T. „The distribution of drug-efflux pumps, P-gp, BCRP, MRP1 and MRP2 in the normal blood-testis barrier and in primary testicular tumors”, *European Journal of Cancer*, 2004, 40, 2064-2070
- Kim, R.B. „Transporters and xenobiotic disposition”, *Toxicology*, 2002, 181-182, 291-297
- Zeuzern, S., Welsch, C., Herrmann, E. „Pharmacokinetics of peginterferons”, *Seminars in Liver Disease*, 2003, 23 (1), 23-28
- Klucken, J., Buchler, C., Orso, E., Kamiński, W.E., Porsch-Ozcurremez, M., Liebisch, G. I wsp. „ABCG1 (ABC8), the human homolog of the Drosophila white gene, is a regulator of macrophage cholesterol and phospholipid transport”, *Proceedings of the National Academy of Science*, 2000, 97 (2), 817-822
- Breedveld, P., Beijnen, J.H., Schellens, J.H.M. „Use of P-glycoprotein and BCRP inhibitors to improve oral bioavailability and CNS penetration of anticancer drugs”, *Trends in Pharmacological Sciences*, 2006, 27 (1), 17-24
- Miyake, K., Mickley, L., Litman, T., Zahn, Z., Robey, R., Cristensen, B. „Molecular cloning of cDNAs which are highly overexpressed in mitoxantrone-resistant cells: Determination of homology to ABC transporters genes”, *Cancer Research*, 1999, 59, 8-13