

SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATI KI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

**POLIMORFIZMI ABC TRANSPORTERA I NJIHOVA ULOGA U
TUMORSKIM STANICAMA**

**POLYMORPHISMS OF ABC TRANSPORTERS AND THEIR
ROLE IN CANCER CELLS**

Seminarski rad

Lana Grižan i
Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)
Mentor: doc. dr. sc. Petra Kora

Zagreb, 2014.

SADRŽAJ

1. UVOD	2
2. ABC TRANSPORTERI.....	4
2.1. Struktura transportera.....	4
2.2. Mehanizam djelovanja transportera	5
2.3. Podjela transportera.....	6
3. POLIMORFIZMI ABC TRANSPORTERA	8
3.1. Ekspresija polimorfizama.....	8
3.2. Polimorfizmi gena <i>ABCB1</i>	9
3.3. Polimorfizmi gena <i>ABCC2</i>	10
3.4. Polimorfizmi gena <i>ABCG2</i>	10
4. BOLESTI I ULOGA POLIMORFIZAMA.....	12
4.1. Akutna limfoblasti na leukemija (ALL)	12
4.2. Hepatocelularni karcinom (HCC)	13
5. ZAKLJUČAK.....	14
6. LITERATURA.....	15
7. SAŽETAK.....	17
8. SUMMARY	17

1. UVOD

Otpornost na ksenobiotike (strana kemijska tvar koja se prirodno ne nalazi u organizmu, a može imati štetne posljedice po njega) je po prvi puta uočena na mišjim stanicama leukemije 1950. (1). Nakon toga započela je intenzivna istraživanja ABC transportera, a već 1976. godine je okarakteriziran i prvi od njih. Riječ je o P-glikoproteinu - koji je izoliran iz transformiranih stanica in vitro koje su uzgajane u kulturi, a pokazivale su otpornost na neke citotoksične tvari (2). Pokazano je da P-glikoprotein u tumorskim stanicama izaziva toleranciju na različite kemoterapeutike poput antraciklina, kolhicina, mitoksantrona i sl. koji se koriste u liječenju tumora i na taj način nepovoljno utječe na ishod same terapije. Kasnije je otkriveno da taj protein ima važnu funkciju u odstranjivanju štetnih tvari iz organizma tako što sprječava njihovo nakupljanje (3).

P-protein je jedan od proteina kodiran genima *ABC* koji kodiraju za transportere ABC porodice. ABC transporteri su skupina proteina koji pripadaju jednoj od najstarijih i najvećih obitelji proteina. Ujedno je to i najveća obitelj transportnih proteina koja je prisutna u svim živim organizmima, od prokariota do čovjeka (4). Bakterijski ABC transporteri imaju ključnu ulogu u održavanju vijabilnosti bakterijske stanice, a odgovorni su i za njenu virulenciju i patogenost. Biljne stanice posjeduju najveću heterogenost gena *ABC* koji kodiraju oko 120 proteina, dok ljudske stanice mogu stvarati oko 50 ABC proteina.

Ubrzo nakon što je otkriven prvi protein iz porodice ABC transportera primjećene su i prve razlike u farmakokinetici i farmakodinamici pojedinih lijekova i posljedice njihovog štetnog utjecaja na određene transportere. Ubrzan razvoj informatike i biotehnologije je omogućio sekvenciranje ljudskog genoma, njegovo mapiranje i otkrivanje genskih varijacija što je dovelo do napretka u farmakogenetici i istraživanjima. Otkriveno je da su male promjene u slijedu nukleotida odgovorne za pojavu složenih genetičkih poremećaja koji su osnova nasljednih bolesti poput cistične fibroze, adrenoleukodistrofije, Tangierove bolesti, Dublinskog - Johnsonovog sindroma, kolestaze, sideroblastoze, različitih vrsta anemija, imunodeficijencije i drugih (5).

2. ABC TRANSPORTERI

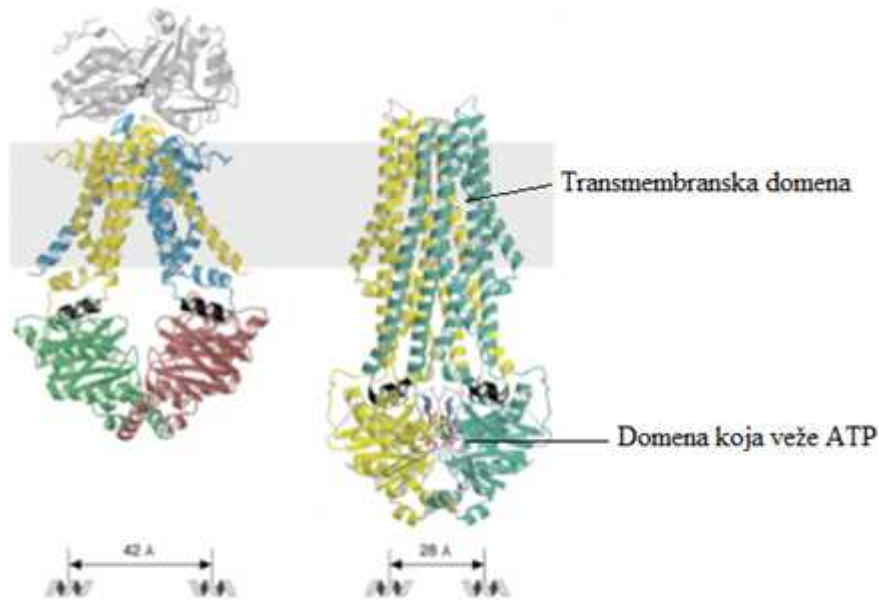
ABC (od eng. *ATP-binding cassette*) transporteri su ubikvitirani integralni membranski proteini koji omogućavaju prijenos različitih supstrata kroz membranu, a energiju za taj proces dobivaju hidrolizom ATP-a. Podijeljeni su u tri skupine prema funkciji koju obavljaju. ABC importeri prisutni su samo u prokariotima i sudjeluju u unosu, većinom hidrofилnih tvari u stanicu. ABC eksporteri prisutni su i u eukariotima i u prokariotima s glavnom funkcijom izbacivanja štetnih tvari iz stanica. Treća skupina ABC proteina nisu transporteri već sudjeluju u translaciji i popravku oštećenja DNA. (6)

2.1. Struktura transportera

Svi ABC transporteri imaju sličnu strukturu koja se sastoji od dvije transmembranske domene (TMD, od eng. *transmembrane domain*) koja omogućuje prolaz tvari kroz lipidni dvosloj i citoplazmatske domene (NBD, od eng. *nucleotide binding domain*) koja omogućuje vezanje i hidrolizu ATP što osigurava energiju za prijenos. Domena koja veže ATP je visoko konzervirana i slična u svih ABC transportera, većinom je riječ o monomeru koji se sastoji od domene koja veže ATP i domene koje stvaraju interakcije s TMD. Transmembranska domena je, za razliku od citoplazmatske domene, vrlo heterogena u primarnoj i sekundarnoj strukturi, duljini i broju transmembranskih zavojnica kojih može biti 10 – 20, dok ih je najviše 6 po molekuli transportera. ABC proteini mogu biti organizirani kao cijeli (full) transporteri koji sadrže dvije transmembranske i dvije ATP-vezne domene ili kao polu-transporteri koji sadrže po jednu domenu koje udruživanjem u homo- ili heterodimere stvaraju funkcionalne transportere. (6)

2.2. Mehanizam djelovanja transportera

Vežanjem i hidrolizom ATP-a dolazi do konformacijske promjene u domeni koja veže ATP, a nekovalentnim interakcijama se preko te domene prenosi na transmembransku domenu. (Slika 1.)



Slika 1. Hidroliza ATP-a omogućuje konformacijsku promjenu i približavanje domena koje vežu ATP

(Preuzeto iz: Hollenstein K. i sur.)

Konformacijska promjena se sastoji u približavanju dviju domena koje vežu ATP pri čemu se udaljenost među njima smanjuje za 10-15 Å, dok transmembranska domena mijenja konformaciju iz one okrenute prema unutra („inward-facing“) u onu okrenutu prema van („outward-facing“). Takve promjene omogućuju eksporterima izbacivanje tvari iz stanice, a importerima vezanje supstrata s vanjske strane membrane. Nakon otpuštanja ADP-a i anorganskog fosfata ponovno dolazi do konformacijske promjene te je sada transmembranska domena okrenuta prema unutra. Importerima ova konformacijska promjena omogućuje otpuštanje supstrata u citoplazmu, a eksporterima vezanje novog supstrata. (6)

2.3. Podjela transportera

ABC transporteri kodirani su najvećom porodicom transportnih gena, a okarakterizirano je više od 48 ljudskih ABC gena koji se na temelju filogenetskih analiza mogu svrstati u 7 potporodica koje se međusobno razlikuju po organizaciji podjedinica i homologiji aminokiselina. Oznake su slova: ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABCF i ABCG.

ABCB potporodica se sastoji od 4 cijela transportera i 7 polutransportera i jedina je potporodica koja sadrži i cijele i polu-transportere. *MDR1* (od eng. *multidrug resistance gene*, *ABCB1*) je jedan od najbolje opisanih i najistraživanijih gena u obitelji ABC transportera koji pripada ABCB potporodici. Taj gen kodira za P-glikoprotein 1 (PGP, od eng. *permeability glycoprotein 1*). Prvotno je identificiran u tumorskim stanicama kao protein koji omogućava otpornost tih stanica na različite lijekove, a zajedno s pridruženim proteinima MRP (od eng. *multidrug resistance associated proteins*) onemogućava unos različitih ksenobiotika, kancerogena i citostatika u organizam. Otežan unos različitih lijekova predstavlja problem u liječenju tumora te rezultira neuspješnim kemoterapijama. Istraživanja na tumorskim stanicama *in vitro* su pokazala da je za otpornost tumorskih stanica na različite kemoterapeutske tvari odgovorna prekomjerna ekspresija gena koji kodira MDR1. Supstrati PGP-a su molekule heterogene strukture, no sve su hidrofobne i amfipatske. Stupanj ekspresije ovisi o tipu stanice, a najviši stupanj ekspresije pokazuju stanice i tkiva koja su odgovorna za regulaciju apsorpcije i ekskrecije štetnih tvari poput luminalne površine epitelnih stanica donjeg gastrointestinalnog sustava, membrane hepatocita, proksimalnih tubula bubrega, luminalne strane endotelnih stanica kapilara, krvno-moždane barijere i placentе.

ABCC je potporodica ABC transportera koja se sastoji od 12 cijelih transportera koji imaju ulogu u transportu iona, prijenosu signala i sekreciji štetnih tvari. U tu skupinu spadaju CFTR (od eng. *cystic fibrosis TM conductance regulator*) i MRP (od eng. *multidrug resistance protein*). Gubitak funkcije u CFTR-u dovodi do cistične fibroze, multisistemske bolesti koja je posljedica nepravilnog rada egzokrinih žlijezda, a vrlo je česta u bijeloj populaciji. Također se smatra da CFTR ima funkciju u zaštiti i uklonjenju bakterijskih patogena. MRP je skupina proteina koje kodira 9 gena. *ABCC1* gen kodira MRP1 koji sudjeluje u uklonjenju toksičnih tvari kao konjugate s glutationom, a zajedno s MDR1 odgovoran je za otpornost na kemoterapeutske tvari. Geni *ABCC2* i *ABCC3* kodiraju proteine koji sudjeluju u prijenosu aniona kao konjugata s glutationom.

ABCD potporodica sastoji se od 4 gena koji kodiraju polutransportere i eksprimirani su isključivo u peroksisomima. Nazivaju se još i ALD (od eng. *adrenoleukodystrophy*) podobitelj. *ABCD1* gen odgovoran je za razvoj adrenoleukodistrofije vezane za X kromosom, a posljedica je nakupljanja zasićenih masnih kiselina. Ostali geni te potporodice udružuju se u različite homo- i heterodimere te su odgovorni za unos i metabolizam specifičnih masnih kiselina.

Geni potporodica *ABCA* i *ABCG* sudjeluju u metabolizmu fosfolipida i kolesterola. Posljedica mutacija u tim genima dovodi do poremećenog prijenosa i prometa lipida preko membrana. Gen *ABCG2* kodira protein MXR1 (od eng. *mitoxantrone resistance protein 1*) koji je također odgovoran za otpornost na ksenobiotike. *ABCG2* je također, poput *ABCB1*, visoko eksprimiran u središnjem živčanom sustavu, jetri i gonadama gdje izbacuje različite tvari kroz apikalnu membranu, u gastrointestinalnom traktu gdje ograničava apsorpciju pojedinih štetnih tvari, uključujući i antibiotike te u bubrežima i jetri gdje je odgovoran za ekskreciju. Budući da je visoko eksprimiran na stanicama trofoblasta smatra se da sudjeluje u uklanjanju štetnih tvari i zaštiti fetusa.

ABCE i *ABCF* potporodice nemaju gene koji kodiraju za transmembranske domene već sudjeluju u prepoznavanju produkata viralne infekcije i u translaciji te se svrstavaju u treću skupinu ABC proteina. (4)

3. POLIMORFIZMI ABC TRANSPORTERA

Polimorfizam gena je pojava koja opisuje stanje kada postoji više od dva alela (genskih varijanata) za određeni genski lokus. Polimorfizam obično uključuje promjenu samo jednog nukleotida (SNP), deleciju manjeg ili većeg dijela sekvence DNA, inserciju određenog broja nukleotida ili ponavljanja di-, tri- ili oligonukleotida različit broj puta. Promjene u slijedu nukleotida DNA dovode do razlika u strukturi proteina za kojeg pojedini gen daje informaciju, što se odražava na promjenu u fenotipu. Polimorfizmi u transporterima povezani su s ljudskim bolestima, a najčešće se pojavljuju i najbolje su okarakterizirani u genima *ABCB1* koji kodira za P-glikoprotein, *ABCC1* koji kodira za MRP1 i *ABCG2* koji kodira za BCRP. Povećana ekspresija *ABCB1* gena ima za posljedicu povećanu otpornost na kemoterapeutske lijekove u tumorskim stanicama što otežava liječenje i ne daje očekivane rezultate. Potencijalne funkcionalne posljedice polimorfizama mogu biti predviđene s obzirom na mjesto njihova pojavljivanja u sekvenci gena i/ili proteinu pa se na temelju tih informacija mogu preciznije određivati terapijski postupci.

3.1. Ekspresija polimorfizama

Istraživanja razine ekspresije gena *MDR1* s obzirom na postojanje polimorfizama u samom genu pokazala su razlike u razini ekspresije individualnih *MDR1* gena tumorskih stanica u odnosu na nepromijenjene stanice. Pokazano je da se u normalnim stanicama oba alela podjednako eksprimiraju, dok se u tumorskim stanicama preferentno ekspimiralel divljeg tipa u odnosu na izmijenjeni alel. Razlog tome može biti sljedeći: nasljeđivanje gena *MDR1* u normalnim i netretiranim stanicama prati pravila klasične Mendelove genetike pa dolazi do koekspresije alela, dok u stanicama koje su tretirane ksenobiotikom može doći do povećane ekspresije jednog od alela neovisno o tome je li mutiran ili divlji tip vjerojatno zbog reorganizacije gena što omogućuje aktivaciju jednog alela i njegovu konstitutivnu ekspresiju. Također je pokazano da se u stanicama otpornima na lijek, nakon tretmana s većim koncentracijama lijeka, količina P-glikoproteina raste. (7)

3.2. Polimorfizmi gena ABCB1

MDR1 ima važnu ulogu u apsorpciji, distribuciji i eliminaciji ksenobiotika u organizmu pa genetičke promjene koje utječu na funkciju proteina ili na regulaciju njegove ekspresije mogu utjecati na apsorpciju u intestinalnom traktu, eliminaciju i distribuciju štetnih tvari u mozgu, fetusu i germinativnim stanicama (7). Mutacije gena *MDR1* (*MDR1a* i *MDR1b*) pokazuju povećano nakupljanje štetnih tvari u pojedinim tkivima te veću osjetljivost na djelovanje ksenobiotika. Gen može imati neki od najmanje 66 kodirajućih SNP-ova od kojih su 24 sinonimna, a 42 su nesinonimna (5). Dva sinonimna i 12 nesinonimnih SNP-ova povezani su s promijenjenom funkcijom ili ekspresijom proteina MDR1 dok ostali ne pokazuju utjecaj na funkciju samih proteina. Tablica 1. prikazuje primjere SNP-ova koji su najranije otkriveni (do 2001. godine). Polimorfizmi C₁₂₃₆T, C₃₄₃₅T i G₂₆₇₇T/A povezani su s promjenama u količini i stabilnosti mRNA, smatanju proteina i farmakokinetici. Funkcionalne promjene polimorfizma G₂₆₇₇T su vidljive samo kada su u kombinaciji s C₁₂₃₆T ili C₃₄₃₅T, ali nikad kada je on prisutan samostalno (5). C₃₄₃₅T polimorfizam (polimorfizam u eksonu 26) u ljudskom genu *MDR1* povezan je sa smanjenom ekspresijom interstinalnog P-glikoproteina, smanjenom funkcijom i povećanom koncentracijom njegovog supstrata, digoksina u plazmi u osoba s TT genotipom u usporedbi s homozigotima za divlji tip (8). Postoji teorija koja kaže da je mRNA mutiranog T-alela manje stabilna od divljeg tipa 3435C ili da rijetki kodon uzrokuje zadržavanje translacije i tako utječe na smatanje proteina. Transporter koji je proizveden informacijom polimorfizma T-alela ima promijenjen afinitet prema inhibitorima i supstratima u prisutnosti tih inhibitora. (3)

Tablica 1. Primjeri polimorfizama jednog nukleotida gena *MDR1*. (Preuzeto iz: Brinkmann U. i sur.)

SNP	Regija	Frekvencija (%)	Efekt
T ₁₂ C	E 1	11,8	Nekodiraju i
G ₁ A	E 2	11,2	TL inicijacija
A ₆₁ G	E 2	17,6	Asn ₂₁ Asp
G ₂₅ T	I 4	26	
G ₃₅ C	I 4	1,2	
T ₃₀₇ C	E 5	1,2	Phe ₁₀₃ Leu
C ₊₁₃₉ T	I 5	48,2	
C ₊₁₄₅ T	I 5	2,4	
G ₁₁₉₉ A	E 11	12,9	Ser ₄₀₀ Asn
C ₁₂₃₆ T	E 12	48,9	Gly ₄₁₂ Gly
C ₊₄₄ T	I 12	11,7	
T ₇₆ A	I 16	45,9	
A ₊₁₃₇ G	I 17	1,2	
G ₂₆₇₇ T	E 21	43,4	Ala ₈₉₃ Ser
G ₂₉₉₅ A	E 24	11,1	Ala ₉₉₉ Thr
C ₃₄₃₅ T	E 26	47,7	Ile ₁₁₄₅ Ile
C ₃₃₉₆ T	E 26	0,53	Wobble

3.3. Polimorfizmi gena *ABCC2*

Gen *ABCC2* kodira vode i transporter koji sudjeluje u uklanjanju protutumorskih lijekova (9), a u stanicama raka dojke koje su otporne na tamoksifen (lijek koji se koristi u liječenju raka dojke) se eksprimira u prekomjernim količinama što ukazuje na njegovu funkciju u uklanjanju aktivnih metabolita tog lijeka (10). Većina polimorfizama u *ABCC2* genu je vrlo rijetka u općoj populaciji, a iznimke mogu biti -24T u 5'-UTR, G₁₂₄₉A i C₃₉₇₂T koji se javljaju i u zdravoj populaciji. Smatra se da polimorfizmi ovog gena nisu od velike važnosti i da ne utječu na transportnu funkciju proteina kojeg kodiraju. (5)

3.4. Polimorfizmi gena *ABCG2*

Gen *ABCG2* nalazi se na četvrtom kromosomu i sadrži 16 eksona veličine 66 kilobaza. Polimorfizmi gena *ABCG2* su mnogo rjeđi od polimorfizama ostala dva opisana gena. Mutacije u genu dovode do povećane osjetljivosti normalnih hematopoetskih stanica na lijek

mitoksantron. Mitoksantron je lijek koji se koristi u kemoterapijama za liječenje nekih vrsta raka. Sekvenciranje ljudskog gena *ABCG2* pokazalo je postojanje više od 80 polimorfizama jednog nukleotida. Utjecaj SNP-ova na aktivnost transporta ovisi o tvari koja se testira te o mjestu u genu na kojemu se dogodila mutacija. Utvrđeno je da su pojedine mutacije (Q₁₂₆stop, F₂₀₈S, S₂₄₈P, E₃₃₄stop, S₄₄₁N i F₄₈₉L) utjecale na smanjenje ili prekid prijenosa porfirina što može biti povezano s rizikom od nastanka bolesti zbog narušavanja homeostaze porfirina. Mutacije s najviše utjecaja su na mjestima 441 i 489 u transmembranskoj domeni koje su ključne u prepoznavanju supstrata i njegovom prijenosu kroz membranu. (11)

4. BOLESTI I ULOGA POLIMORFIZAMA

Mutacije u transporterima povezane su s ljudskim bolestima koje su često maligne, a najčešće su to polimorfizmi gena *ABCB1* koji kodira P-glikoprotein, *ABCC1* koji kodira MRP1 i *ABCG2* koji kodira BCRP. Postoji mnogo malignih bolesti koje su posljedica izmijenjenog genetičkog materijala u područjima koja kodiraju ABC transportere. Mutacije u promotorima dovode do poremećene regulacije ekspresije tih gena, dok mutacije u samim genima uzrokuju izmijenjene strukture proteina što utječe na njihovu funkciju. U ovom radu su opisana dva primjera bolesti koje se najčešće javljaju među ljudskom populacijom, no postoji velik broj različitih bolesti koje se javljaju kao direktna ili indirektna posljedica pojave različitih polimorfizama u genima za transportne proteine koji utječu na promjenu funkcije samih proteina.

4.1. Akutna limfoblastična leukemija (ALL)

Akutna limfoblastična leukemija (ALL, od eng. *acute lymphoblastic leukaemia*) bolest je krvotvornog tkiva koju karakterizira nakupljanje maligno promijenjenih leukocita u koštanoj srži, perifernoj krvi i ostalim krvotvornim organima. Najčešća je maligna bolest djece je dobivaju do 30% svih malignih bolesti djece je dobivaju, a zastupa oko 80% svih tipova leukemija. Nastaje zbog različitih genetičkih i kromosomalnih promjena u nezrelim stanicama. Liječenje se sastoji od kemoterapija indukcije, konsolidacije, intenzifikacije i održavanja. Osobe s povećanom koncentracijom proteina MRP imaju smanjenu mogućnost izliječenja zbog izbacivanja lijekova iz stanica, poput doksorubicina. Također, povećana ekspresija gena *ABCG2* utječe na povećanu otpornost na kemoterapeutske tvari. (12)

Smatra se da polimorfizmi gena koji kodiraju proteine sudionike transporta i metabolizma lijekova imaju važnu ulogu u preživljavanju nakon terapije tj. utječu na odgovor organizma na terapiju te su povezani s toksičnošću lijekova kojima se tretiraju leukemije. Polimorfizmi gena *MDR1* utječu na ekspresiju funkcionalnog P-glikoproteina. Funkcionalni PGP omogućuje kvalitetno djelovanje lijekova zbog njihovog izbacivanja iz stanice. Analize SNP-ova su pokazale da su pacijenti s polimorfizmom G₂₆₇₇T/A (GG, GA ili AA genotipovi) u genu *MDR1* imali značajno manju mogućnost ozdravljenja u usporedbi s GT- ,

TT ili TA genotipovima. Također, promjena C₁₂₃₆T utjecala je na ishod liječenja, pa su tako pacijenti CC genotipa imali lošije preživljenje od pacijenata s TT genotipom. Pacijenti s AA genotipom (polimorfizam G₁₂₄₉A u genu za MRP2) bili su rizičnija skupina od pacijenata s GG genotipom. Najrizičnija skupina bio je AA genotip (za C₄₂₁A polimorfizam u genu za BCRP). Također, pokazano je da je preživljavanje bez posljedica bilo kraće u pacijenata bez mutacija u navedenim nukleotidima te da rizik raste s pojavom jedne ili većeg broja mutacija. Pokazano je i da prije opisani polimorfizmi u genu *MDRI* (C₁₂₃₆T, C₃₄₃₅T i G₂₆₇₇T/A) koji mijenjaju strukturu i ekspresiju P-glikoproteina, ne povećavaju rizik oboljevanja od ALL kao što se prije vjerovalo. (11)

4.2. Hepatocelularni karcinom (HCC)

Hepatocelularni karcinom (HCC- od eng. *hepatocellular carcinoma*) nastaje kao posljedica kronične bolesti jetre ili zbog virusne infekcije i česti je uzrok smrti diljem svijeta. Jetra ima zaštitnu funkciju u uklanjanju endogenih i egzogenih tvari koje su potencijalni mutageni i kancerogeni pri čemu najveću važnost imaju ABC transporteri. Mutacije gena koji kodiraju te proteine mogu onemogućiti zaštitu sustava i nakupljanje štetnih tvari što može uzrokovati HCC. Kao što je već prije rečeno, polimorfizmi mogu utjecati na razlike u osjetljivosti na različite tvari i njihovu farmakokinetiku i farmakodinamiku. U pacijenata s HCC-om otkrivene su kombinacije mutacija *ABCB1* (mutacija C₃₄₃₅T), *ABCC1* (T₈₂₅C) i *ABCB11* (CTCT_{-15281,-15278}delete). Ti polimorfizmi u ABC transporterima ukazuju na značaj eksportera u zaštiti tkiva i sprječavaju akumulaciju štetnih tvari u organizmu. Mutacije gena za transportere mijenjaju strukturu samih transportera što onemogućuje vezanje pojedinih supstrata za taj transporter i njihovo uklanjanje iz organizma zbog svoje moguće toksičnosti i kancerogenosti. Nemogućnost pravilne ekskrecije tih tvari utječe na njihovu akumulaciju te povećava rizik od oboljevanja od malignih bolesti. (13)

5. ZAKLJUČAK

ABC transporteri sudjeluju u prijenosu endobiotika i ksenobiotika preko membrane u različitim vrstama tkiva te su uključeni u fiziologiju, razvoj bolesti, farmakokinetiku i farmakodinamiku lijekova. Genetičke razlike između transportera uzrokuju specifične razlike u prometu lijekova i odgovorne su za individualne razlike u fiziologiji i farmakoterapiji. Od velike je važnosti prikupljanje podataka o SNP-ovima za različite transportere kako bi bilo moguće otkriti koji polimorfizmi utječu na specifičnost supstrata. Konačni cilj istraživanja transportera je bolje razumijevanje ljudskih bolesti i usavršavanje terapije malignih bolesti i adekvatnim prijenosom lijekova preko membrana tumorskih stanica.

6. LITERATURA

1. Mickley L, Lee J, Weng Z. Genetic Polymorphism in MDR-1: A Tool for Examining Allelic Expression in Normal Cells, Unselected and Drug-Selected Cell Lines, and Human Tumors. *Blood*. 1998;91(5):1749-56.
2. Leonard G, Fojo T, Bates S. The Role of ABC Transporters in Clinical Practice. *Oncologist*. 2003;8:411-24.
3. Brinkmann U., Eichelbaum M. Polymorphisms in the ABC drug transporter gene MDR1. *The Pharmacogenomics Journal*. 2001;1:59–64
4. Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP –binding cassette (ABC) transporter family. *The Journal of Lipid Research*. 2001;42:1007-17
5. Tamura A, Watanabe M, Saito H, Nakagawa H. Functional Validation of the Genetic Polymorphisms of Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter ABCG2: Identification of Alleles That Are Defective in Porphyrin Transport. *Mol Pharmacol*. 2006;70(1):287-96
6. Hollenstein K, Dawson R, Locher K. Structure and mechanism of ABC transporter proteins. *Current Opinion in Structural Biology*. 2007;17(4):412-18.
7. Sissung T, Troutman S, Campbell T, Pressler H. Transporter Pharmacogenetics: Transporter Polymorphisms Affect Normal Physiology, Diseases, and Pharmacotherapy. *Discov Med*. 2012;13(68):19-34.
8. Drescher S, Schaeffeler S, Fromm M. MDR1 gene polymorphisms and disposition of the P-glycoprotein substrate fexofenadine. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2002;53(5):526-34.
9. Cascorbi I, Gerloff T, Johne A. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2001;69:169-74.
10. Kiyotani K, Mushiroda T. Significant effect of polymorphisms in CYP2D6 and ABCC2 on clinical outcomes of adjuvant tamoxifen therapy for breast cancer patients. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(8):1287-93.

11. Zhai X, Wang H, Zhu X, Miao H. Gene polymorphisms of ABC transporters are associated with clinical outcomes in children with acute lymphoblastic leukemia. *Arch Med Sci.* 2012;8(4):659–71.
12. Erdelyi D. Role of ABC transporter gene polymorphisms in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Cellular Immunology.* 2006;244:121–124.
13. Fukuda M, Kawahara Y, Hirota T, Akizuki S. Genetic Polymorphisms of Hepatic ABC-Transporter in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Cancer Therapy.* 2010;1:114-23.

7. SAŽETAK

ABC transporteri su membranski proteini koji omogućuju prijenos različitih tvari kroz membranu i kao takvi su nužni u održavanju integriteta i homeostaze cjelokupnog metabolizma. Ti proteini se sastoje od više domena, a upravo je interakcija među domenama i njihova konformacijska promjena ključna u procesu prijenosa tvari, a kao glavni pokretač je energija dobivena hidrolizom ATP-a koja uzrokuje tu konformacijsku promjenu. S obzirom na homologiju domena, geni ABC porodice se mogu svrstati u 7 potporodica koje obnašaju različite funkcije u organizmu i zastupljene su u različitim stanicama i tkivima organizma. Različite vrste ABC transportera su odgovorne za prijenos supstrata koji mogu biti heterogene strukture, podrijetla i funkcije u organizmu. Iako sudjeluju u prijenosu endogeno sintetiziranih supstrata kao i stranih tvari, prvenstveno su otkriveni na temelju uloge u uklanjanju protutumorskih lijekova iz tumorskih stanica zbog čega smanjuju efikasnost liječenja tumora. Na efikasnost liječenja tumora utječu, osim lijekova i neki drugi čimbenici organizma kao što su i polimorfizmi ABC transportera. Različite genske varijante za određeni protein utječu na njegovu pojavnost i mogućnost obavljanja funkcije u organizmu. Tako je na temelju istraživanja različitih malignih bolesti u ljudi pokazano da različite genske varijante ABC transportera utječu na ishode liječenja bilo da povećavaju ili smanjuju mogućnosti ozdravljenja. Daljnja istraživanja će doprinijeti razumijevanju polimorfizama u ABC transporterima i njihovu funkciju u prijenosu tvari kroz membranu te na taj način omogućiti kvalitetniji pristup u liječenju malignih bolesti.

8. SUMMARY

ABC transporters are transmembrane proteins that enable translocation of various substances across cellular membranes, and as such are essential in maintaining integrity and homeostasis of whole metabolism. These proteins are composed of multiple domains, and interactions between domains and their conformational changes are crucial in translocation process. These transmembrane proteins utilize energy by hydrolysis of ATP, which causes a conformational change. ABC gene family are classified based on domain homology into

seven subfamilies. Different ABC transporter proteins perform different functions in the body and are present in different cells and tissues of the body. Different types of ABC transporters are responsible for the transfer of substrates with heterogeneous structure, origin and function in the cell. Although they participate in the transfer of endogenously synthesized substrates and the foreign substances, they were primarily discovered because of their role in the removal of anticancer drugs from tumor cells thereby reducing the efficiency of tumor treatment. Efficiency of the treatment of tumors affects other than drugs, and other factors such as cell physiological condition and polymorphisms of ABC transporters. Different genetic variant coding for a particular protein affect its conformation and the possibility of maintaining its function in cells. Research based on various malignancies in humans has shown that different gene variants of ABC transporters affect outcomes - either increase or decrease treatment efficiency. Further research should contribute to understanding polymorphisms in ABC transporters and their function in translocation mechanisms across the membrane and thus allow better understanding and more efficient treatment of malignant diseases.