

# **ABC-TRANSPORTØRER**

---

**5.ÅRSOPPGAVE STADIUM IV MEDISIN EMBETSSTUDIUM VED  
UNIVERSITET I TROMSØ**

**ARNE MARTIN SLÅTSVE  
KULL 04**

**Veileder:**

**Professor, dr. med. Georg Sager  
Institutt for Medisinsk Biologi  
Det medisinske fakultet  
Universitetet i Tromsø**

**Tromsø 29.05.09**

## Innholdsfortegnelse

|  |    |
|--|----|
| Resymé .....                                     | 3  |
| Historien om ABC-transportørens oppdagelse ..... | 4  |
| Prinsipper for membrantransport.....             | 6  |
| ABC-transportører .....                          | 7  |
| Struktur.....                                    | 8  |
| Nukleotidbindende domener .....                  | 8  |
| Transmembrandomener .....                        | 8  |
| Transportmekanisme .....                         | 9  |
| ABC-gener.....                                   | 9  |
| ABC-klassene med utvalgte mutasjoner .....       | 10 |
| ABCA .....                                       | 10 |
| ABCB .....                                       | 11 |
| ABCC .....                                       | 11 |
| ABCD .....                                       | 12 |
| ABCE .....                                       | 12 |
| ABCF .....                                       | 12 |
| ABCG.....  | 13 |
| Humane ABC transportørers evolusjon.....         | 13 |
| Regulering av ABC-genes transkripsjon.....       | 14 |
| ABC-transporteres rolle i farmakokinetikken..... | 16 |
| Farmakologi – et overblikk .....                 | 16 |
| Absorpsjon og biotilgjengelighet.....            | 17 |
| ABC-transportører i GI-tractus .....             | 18 |
| ABC-transportører i huden.....                   | 22 |
| Distribusjon .....                               | 23 |
| ABC-transportører i blod-hjerne-barrieren .....  | 23 |
| Metabolsime og ekskresjon .....                  | 25 |
| ABC-transportører i levera .....                 | 25 |
| ABC-transportører i nyrene.....                  | 28 |
| Avslutning.....                                  | 30 |
| Referanser .....                                 | 31 |

## Resymé

ABC (*ATP-binding cassette*)-transportører er store, evolusjonsmessig høykonserverte membranproteiner som er påvist i alle arter fra prokaryoter til komplekse organismer. ABC-transportørene muliggjør energiavhengig transport av spesifikke substrater gjennom cellemembraner. Blant substratene vi kjenner er lipider, karbohydrater, peptider, vitaminer, steroidhormoner, xenobiotika og medikamenter.

ABC-transportørene kjennetegnes av to karakteristiske ATP-bindende kassetter og to komplekse transmembrane domener. I de ATP-bindende kassetene genereres energi til substrattransporten ved ATP-hydrolyse. De transmembrane domenene forankrer ABC-transportørene i cellemembranen og danner transportveien gjennom denne.

Det humane genom har 48 identifiserte ABC-transportørgener. Genene inndeles på bakgrunn av strukturlikhet i sju klasser (ABCA – ABCG).

I løpet av de siste 30 årene har forskningen avdekket stadig mer om ABC-transportørens fysiologiske betydning, deres rolle i patologien og farmakologien. I dag vet man at disse proteinene forhindrer fritt opptak av en rekke medikamenter fra GI-tractus, samt begrenser distribusjonen av medikamenter til blant annet hjernen, placenta, testes og hjertet. Transportørene er også sentrale i såkalt multimedikamentell resistens hos cancerceller og mikroorganismer. Man har utviklet flere måter å manipulere transportørene på - blant annet ved bruk av såkalte inhibitorer, for å bedre opptak og distribusjon av medikamenter. Mutasjoner i ABC-genene forårsaker en rekke sykdommer, og genene er gjenstand for til dels betydelige individuelle og etniske variasjoner.

I denne litteraturstudien vil den mest sentrale kunnskapen om ABC-transportørene bli presentert. Innledningsvis vil historien om deres oppdagelse bli skissert, etterfulgt av generelle fakta om deres funksjon, struktur, regulering og evolusjonære opphav. Enkelte genetiske sykdommer vil også bli omtalt. Avslutningsvis vil ABC-transportørens rolle i farmakokinetikken bli belyst.

## Historien om ABC-transportørenes oppdagelse

Etter å ha eksistert i kanskje 3,5 milliarder år, ble celler første gang observert i 1665 da Robert Hooke så døde korkceller i sitt primitive mikroskop og derigjennom åpnet cellebiologien som forskningsfelt. Antonie van Leeuwenhoek benyttet samme teknologi da han i 1674 undersøkte vannprøver med alger og dermed ble det første mennesket som så en levende enkeltcelle. At celler var omgitt av en vegg eller barriere så man tydelig i mikroskopet, noe betydningen av ordet celle (*l. avlukke*) vitner om, men hva denne besto av visste man ikke. Selv om oppfinnelsen av mikroskopet på mange måter var revolusjonerende, gikk det lang tid før det kom skikkelig i bruk. Høy pris, hemmelighetskremmeri blant forskere, et visst neglekt fra universitetshold og et utbredt syn på mikroskopet som et leketøy<sup>1</sup>, førte til at århundrene gikk før cellebiologien igjen kom i fokus.

Det gikk nesten 200 år før det kom nye gjennombrudd i forskningen på cellemembranens kjemi og struktur. På 1800-tallet var mikroskopene blitt så bra at man kunne fastslå at planter og dyr besto av celler. Dette ga opphav til *celleteorien*, som sier at celler er den grunnleggende enheten i alle levende organismer og at nye celler bare oppstår ved deling av allerede eksisterende celler. På denne tiden var det fortsatt vanlig å tro at dyr kunne oppstå spontant fra støv, og flere hevdet å ha sett slike «animalkuli» i mikroskopet. Denne teorien ble lagt død i 1862, da Louis Pasteur vant en konkurranse utlyst av Paris-akademiet for å avklare om det var mulig at liv kunne oppstå spontant. Det var i det hele tatt en sterk økning i både interesse og tekniske muligheter for cellebiologiforskning på siste halvdel av 1800-tallet. Særlig i Tyskland ble det gjort mange oppdagelser innenfor celle- og mikrobiologien. Moritz Traube lanserte i 1864 teorien om at cellemembraner måtte være semipermeable for å tillate transport av ioner, men kunne ikke bevise det<sup>2</sup>. I 1899 beviste H. H. Meyer at fettløselige substanser passerer lettere inn i en celle enn vannløselige, og trakk dermed konklusjonen at celler var omgitt av en lipidmembran<sup>3</sup>.

På slutten av det 19. århundre var det altså enighet om at cellene var omgitt av en semipermeabel lipidmembran, men den eksakte strukturen var fortsatt ukjent og spørsmålet om hvordan cellene transporterte polare molekyler gjennom membranen stod ubesvart. Indikasjoner på at membranen besto av et lipiddobbeltag kom i 1925<sup>4</sup>, men absolutt bevis kom først etter at man på slutten av 1950-tallet tok i bruk elektronmikroskopet, og det ble mulig å se lipiddobbeltag som omga cellene<sup>5</sup>.

Selv om kunnskapen om lipidstrukturen i cellemembranen etter hvert ble ganske god, var spørsmålet om hvordan cellene transporterte ladete molekyler inn og ut stadig et hett tema. Membrantransportens forskningsmessige æra begynte for alvor i 1957 da Jens Skou ved Universitetet i Aarhus oppdaget  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasen<sup>6</sup>.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasen var det første veldokumenterte eksempelet på et membranbundet proteins medvirkende i en veldefinert transport over cellemembranen. Oppdagelsen banet vei ikke bare for identifisering av andre transportører, men var som prinsipp også viktig i den moderne og fortsatt gyldige cellemembranmodellen (*fluid mosaic modell*)<sup>7</sup> som ble lansert av Singer og Nicolson i 1972.

Oppdagelsen av ABC-transportørene skjedde på bakgrunn av etterkrigsårenes mange store medisinske gjennombrudd. Penicillin hadde gjort tidligere potensielt dødelige infeksjoner til behandlingsmessige bagateller, de første cellegiftene kom på markedet og bekjempelsen av skadedyr med kjemikalier gjorde insektsbårne sykdommer mindre truende. Til tross for stor optimisme ved lanseringen av de nye stoffene, ble det etter hvert klart at de nye vidundermedikamentene i lengden ikke levde opp til forventningene. Allerede ett år etter at DDT ble introdusert i 1939, ble det rapportert om resistente insekter<sup>8</sup>. Penicillin, stoffet som revolusjonerte helsevesenet og førte til bioteknologindustriens fødsel, viste seg snart ikke å bite på enkelte bakterier, og fra 60-tallet var multiresistente bakterier blitt et reelt problem<sup>9</sup>. Samme mønster ble observert da kombinasjonskjemoterapi ble tatt i bruk mot tumorer resistente mot enkeltmedikamenter i 1963; multimedikamentresistente tumorer utviklet seg raskt<sup>10</sup>. Disse observasjonene førte til at et nytt begrep ble født: multimedikamentell resistens (*multidrug resistance/MDR*). Det så ut til at celler og organismer raskt kunne tilpasse seg forskernes forsøk på å kontrollere og manipulere dem, og jakten på mekanismene bak disse tilpassningene var i gang.

De første MDR-cellene ble isolert fra ovariecancerceller fra hamster i 1968<sup>11</sup>, og i 1973 ble det bevist økt medikamentefflux fra disse<sup>12</sup>. Samme forskergruppe påviste også økt medikamentakkumulasjon i cellene ved samtidig tilsetning av inhibitorer. Året etter ble det klart at medikamentresistensen var energiavhengig<sup>13</sup>. I 1976 ble det vist at ABC-transportøren ABCB1 ble uttrykt i MDR-cellenes membraner<sup>14</sup>. Det ble etter hvert konkludert med at MDR hadde sin årsak i økt uttrykk av membranproteiner som aktivt pumpet medikamentene ut av cellene. Siden har oppdagelsene kommet slag i slag og gjennom de siste 30 år har man via identifisering av substrater og inhibitorer, sekvensering av gener, kartlegging av vevslokalisering, isolering og fremstilling av krystallstrukturer økt kunnskapen om det som fra 1985 ble definert som ABC-superfamilien.

## Prinsipper for membrantransport

Gitt nok tid vil hvilket som helst molekyl, uavhengig av sin natur, diffundere ned sin konsentrasjonsgradient gjennom en proteinfri lipidmembran, men hastigheten vil variere enormt. Jo mindre i størrelse og mer hydrofobt et molekyl er, desto raskere vil det diffundere gjennom membranen. Små, ikke-polare molekyler som CO<sub>2</sub> og O<sub>2</sub> diffunderer derfor lett inn og ut av celler. En lipidmembran er derimot nærmest ugjennomtrengelig for ladede molekyler, uansett hvor små de måtte være. Et vannmolekyl vil for eksempel diffundere 10<sup>9</sup> ganger raskere gjennom en membran enn Na<sup>+</sup>. Større molekyler transporteres gjennom membranen ved hjelp av endo- eller exocytose.

For å sikre tilførsel av ladede næringsstoffer, ekskresjon av avfallstoffer samt regulering av intracellulære ionekonsentrasjoner, har cellen utviklet membrantransportproteiner som ivaretar disse oppgavene. Alle slike transportører har så langt vist seg å være såkalte multipass transmembranproteiner, det vil si at deres polypeptidkjede transverserer lipidbilaget flere ganger<sup>15</sup>. Transportørene gjør det mulig å frakte hydrofile molekyler gjennom lipidmembranen uten at de kommer i kontakt med dens hydrofobe indre. Man regner med at det finnes 500-1200 gener som koder for transportproteiner hos mennesket<sup>16</sup>.

Man deler membrantransportørproteinene inn i to grupper: transportører (*carrier proteins*) og kanalproteiner (*channel proteins*). Transportørene binder spesifikke substrater på innsiden eller utsiden av membranen og frakter dem til motsatt side ved å gjennomgå en serie konformasjonsendringer. Kanalproteiner danner porer i membranen som hydrofile molekyler, spesielt inorganiske ioner, kan diffundere gjennom. Alle kanalproteinene og mange transportører muliggjør fasilisert diffusjon, hvilket vil si *passiv transport* ned substratenes konsentrasjons- eller elektrokjemiske gradienter. Mange transportører pumper substrater opp konsentrasjons- og elektrokjemiske gradienter. Slik *aktiv transport* forutsetter utnyttelsen av en energikilde, for eksempel ATP eller en ionegradient. Kanaltransport er således alltid passiv, mens transportørtransport kan være både passiv og aktiv.

Aktiv transport foregår på tre måter:

- *Koblede transportører* utnytter frigjort energi fra transport av substrater ned gradienter til å transportere andre substrater opp gradienter. I denne kategorien finner man uni-, sym- og antiportere.

- *ATP-drevne transportører* frakter substrater opp gradienter ved bruk av energi frigitt fra ATP-hydrolyse.
- *Lysdrevne pumper* bruker lys som energikilde. Disse finnes hovedsakelig i bakterier.

De ATP-drevne transportørene deles inn i type P-, F-, V- og ABC-transportører<sup>6</sup>.

**P-typen** baseres på autofosforylering og frakter primært ioner. I denne gruppen finner man blant annet Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasen og ulike Ca<sup>2+</sup>- og H<sup>+</sup>-pumper. **F-typen** finnes i membraner hos bakterier, mitochondrier og i thylakoidmembranen hos chloroplaster, og utnytter H<sup>+</sup>-gradienten til å danne ATP fra ADP og P. Denne reaksjonen er sentral i oksydativ fosforylering og fotosyntesen. **V-typen** er strukturelt svært lik F-typen, men har motsatt funksjon da den forbruker ATP for å danne H<sup>+</sup>-gradienter. V-typen er trolig også involvert i en lang rekke intra- og intercellulære prosesser, blant annet reseptormediert endocytose, aktiv transport av metabolitter og neurotransmitterfrigjøring. **ABC-transportørene** vi nå bli nærmere presentert.

## ABC-transportører

ATP-Binding Cassette(ABC)-transportører bruker ATP-hydrolyse som drivkraft for å frakte substrater inn eller ut av celler. Substratene, som varierer fra små ioner til makromolekyler, pumpes opp sine konsentrasjons- og/eller elektrokjemiske gradienter. ABC-transportørene har ikke bare denne rene transportfunksjonen, de kan også flippe molekyler, blant annet lipider og membranproteiner, fra det indre til det ytre laget av cellemembranen<sup>17</sup>. Dette involverer dem ikke bare i vedlikehold av membranen, men også i avanserte oppgaver som antigen- og reseptorpresentasjon. Pumpene er også viktige i cellenes forsvar mot toksiner og stress, og uttrykkes derfor i store mengder i stamceller og i ulike barrierer som blod-hjerne-barrieren og tynntarmsepitetet<sup>18</sup>.

ABC-transportørene tilhører en eksklusiv klubb av proteiner som finnes hos alle organismer og kan deles i to grupper, importører og eksportører, som henholdsvis pumper molekyler inn og ut av cellen. Eksportører finnes i cellemembranene hos både eukaryoter og prokaryoter, mens importører foreløpig kun er funnet hos prokaryoter<sup>19</sup>. Høyere organismer har også ABC-transportører i det endoplasmatiske reticulum, den indre mitochondrielle membran og i peroxisomale og vacuolære membraner<sup>19</sup>.

## Struktur

ABC-transportørene har en karakteristisk arkitektur som består av to hydrofobe transmembrandomener (TMD) forankret i cellemembranen og to hydrofile nukleotidbindende domener (NBD) lokalisert i cytoplasma<sup>20,21</sup>. Alle de fire domenene kan være kodet i ett gen og genet betegnes da som en *fulltransportør*<sup>22</sup>. Et gen kan også bestå av kun ett TMD og ett NBD og kalles da en *halvtransportør*. Halvtransportører danner funksjonelle pumper i form av homodimere eller hetrodimere<sup>22</sup>. I tillegg til NBDene og TMDene kan ytterligere grupper påkobles en eller flere av subenhetene, trolig som et ledd i reguleringen av pumpene<sup>23</sup>. ABC-proteinene er fra 600 til 5058 aminosyrer lange<sup>17</sup>.

## Nukleotidbindende domener

NBDene befinner seg i cytoplasma og består av et konservert katalytisk *kjernerdomene*, som inneholder de såkalte Walker A og B-motivene, en Q-loop og et H-motiv, og et variabelt  *$\alpha$ -helix-domene* som inneholder ABC-signatur-motivet (LSGGQ)<sup>20</sup>. De to ABC-enhetene ligger motsatt vei i forhold til hverandre slik at den enes Walker A-motiv orienteres mot den andres ABC-signaturmotiv. Disse to motivene danner det felles ATP-bindingsstedet på overflaten mellom de to enhetene, hvilket forklarer hvorfor det trengs to NBDer i en funksjonell pumpe. Av samme grunn er det størst kontakt mellom domenene når ATP er bundet, mens strukturene står noe fjernere fra hverandre i nukleotidfri tilstand.

## Transmembrandomener

TMDene ligger forankret i membranen hvor de danner strukturen substratet passerer gjennom ved translokasjon. I TMDene finner man også substratbindingsstedet. I motsetning til NBDene, er TMDene en heterogen gruppe med store sekvensielle og strukturelle variasjoner, noe som reflekterer de ulike pumpenes substratspesifisitet og funksjon<sup>20</sup>.

Domenene deles foreløpig inn i tre grupper/folder: *Type 1 importører*, *type 2 importører* og *ABC eksportører*, men fylogenetiske analyser indikerer det at det kan finnes flere typer<sup>24</sup>. Type 1- og 2- importør-foldene består av henholdsvis 5-8 og 10  $\alpha$ -helixer per domene og finnes, som navnene indikerer, kun hos importører. ABC- eksportør-folden består av 6 helixer per domene og er den eneste gruppen som finnes hos mennesket<sup>20</sup>.  $\alpha$ -helixene er organisert på forskjellige måter i de ulike pumpene; enkelte helixer har for eksempel en betydelig vinkel i forhold til membranen og noen ligger sågar parallelt med denne.

## Transportmekanisme

ABC-transportørene er enten importører eller eksportører, og det er foreløpig ikke funnet eksempler på pumper som fungerer som begge deler. De strukturelle likhetene hos medlemmene av ABC-superfamilien peker i retning av en grunnleggende lik transportmekanisme<sup>25</sup> som kan forklares gjennom den generaliserte *alternating access-modellen*<sup>26</sup>. I denne modellen vil substratbindingsstedet i TMDene veksle mellom å være vendt mot den intracellulære og den extracellulære siden av membranen, avhengig av om ATP eller ADP er bundet. Etter at substratet er bundet, vil ATP-hydrolysen i NBDene frembringe konfigurasjonsendringer i transportøren som fører til at substratbindingsstedet åpnes mot motsatt side av membranen og substratet slippes fri<sup>20</sup>. Modellen er en generalisering og man antar at det kan være forskjeller mellom de ulike ABC-klassene.

Drivkraften i transportørene er altså ATP-hydrolyse i NBDene. ATPs  $\gamma$ -fosfat bindes i det felles bindingsstedet mellom Walker A-motivet og LSGGQ-signaturen, mens  $Mg^{2+}$  posisjoneres i forhold til fosfatet via Walker B-motivet. Det er foreløpig ingen konsensus vedrørende hvilke grupper i det katalytiske kjernedomenet som er ansvarlige for selve hydrolysen, som altså innebærer en  $Mg^{2+}$ -involvert spaltning av  $\gamma$ -fosfatet. Uansett frembringer hydrolysen en konformasjonsendring først i NBDene som via Q-loopene interagerer med looper mellom TM-helixene og fører til konformasjonsendring også i TDMene. Trolig kan det være nok med spaltning av ett ATP-molekyl for å drive pumpen, men sannsynligvis må det to molekyler til for effektiv drift. Det ser heller ikke ut til at pumpen må ha bundet et substrat for å endre konformasjon, noe som kan føre til futil ATP-forbrenning<sup>27</sup>.

ABC-enhetene har høyere affinitet for ATP enn ADP når substratet ikke er bundet, hvilket sørger for å nullstille pumpen etter avsluttet transport.

Man anslår at 10-60 % av det totale ATP-forbruket hos mennesket går med til drift av ABC-transportører, avhengig av aktivitet og tilstand<sup>28</sup>.

## ABC-gener

Mennesket har 48 kjente ABC-gener som deles inn i sju klasser basert på strukturlikheter<sup>29</sup>. I tillegg finnes 22 beskrevne ABC-pseudogener, noe som er overraskende få i forhold til andre genfamilier<sup>30</sup>. ABC-genene er jevnt fordelt i genomet, bortsett fra et fåtall samlinger på to til fem gener som sannsynligvis er et resultat av nyere duplikasjoner<sup>17</sup>. Genene er på 7,9 til 449

kb, samtlige har introner og har fra 10 til 60 exoner. Foreløpig er ikke alternativ splicing systematisk studert, men flere gener har vist seg å resultere i to til sju alternative transkripter og proteinprodukter<sup>17</sup>. Antallet pumper er derfor større enn antallet gener. De fleste ABC-genene er heltransportører og koder for alle de fire nødvendige domenene.

Det er foreløpig påvist mutasjoner i 18 ulike ABC-gener hos mennesket som forårsaker sykdommer eller bestemte fenotyper<sup>31</sup>. Samtlige er recessive eller X-bundet recessive sykdommer og to er potensielt dødelige (cystisk fibrose og adrenoleukodystrofi). Mutasjoner i kun ett av genene fører til utviklingsdefekter, nemlig CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) som medfører manglende utvikling av *vas deferens* og sterilitet. Dette tyder på at ABC-genene ikke er spesielt viktige i fosterutviklingen<sup>17</sup>.

## ABC-klassene med utvalgte mutasjoner

### ABCA

ABCA-klassen inneholder de største ABC-genene og har flere medlemmer på over 2100 aminosyrers lengde<sup>32</sup>. Mange av ABCA-pumpene, som alle er heltransportører, har utviklet seg til spesialiserte lipidtransportører<sup>33</sup>. Blant de kjente substratene er kolesterol, sfingolipider og fosfolipider. Mutasjoner i ABCA-genene har vist å gi opphav til arvelige sykdommer som rammer viktige fysiologiske prosesser i det kardiovaskulære, respiratoriske og visuelle system samt huden. For eksempel fører mutasjoner i ABCA1 til Tangiers sykdom<sup>34</sup>, en tilstand med nedsatt HDL-konsentrasjon grunnet redusert evne til kolesteroltransport ut av cellene. Mutasjoner i ABCG5 og ABCA8 fører til hyperkolesterolemi grunnet hyperabsorpsjon av steroler i tarmen og nedsatt ekskresjon av steroler i gallen<sup>33</sup>. ABCA4-mutasjoner kan føre til flere ulike øyesykdommer, blant annet retinitis pigmentosa og alderrelatert maculadegenerasjon (AMD), gjennom forstyrrelser i vitamin A-transporten<sup>33</sup>. Lamellær ichthyose type 2 er en hudsykdom som kjennetegnes ved fortykket, tørr, stiv og flassende hud, og forårsakes av mutasjoner i ABCA12<sup>35</sup>.

| Gen   | Lokalisasjon | Ekspresjon             | Funksjon                 |
|-------|--------------|------------------------|--------------------------|
| ABCA1 | 9q31.1       | Alle vev               | Kolesterolefflux til HDL |
| ABCA2 | 9q34         | Hjernen                | Medikamentresistens      |
| ABCA3 | 16p13.3      | Lungene                |                          |
| ABCA4 | 1p22.1;-p21  | Staver/ fotoreseptorer | N-retinylidene-PE efflux |

|        |           |                          |  |
|--------|-----------|--------------------------|--|
| ABCA5  | 17q24     | Muskler, hjertet, testes |  |
| ABCA6  | 17q24     | Lever                    |  |
| ABCA7  | 19p13.3   | Milt, thymus             |  |
| ABCA8  | 17q24     | Ovarier                  |  |
| ABCA9  | 17q24     | Hjertet                  |  |
| ABCA10 | 17q24     | Muskler, hjertet         |  |
| ABCA12 | 2q34      | Mage                     |  |
| ABCA13 | 7p11;-q11 | Lavt i alle vev          |  |

### ABCB

Består av fire heltransportører og sju halvtransportører, hvilket gjør denne klassen til den eneste som inneholder begge gruppene<sup>17</sup>. Av særlig interesse er ABCB1 som koder for Pgp, den mest studerte ABC-transportøren. Medlemmene i denne klassen frakter mange ulike substrater, alt fra jernioner til proteiner og medikamenter. Mange cellegifter er ABCB1-substrater og overekspressjon av ABCB1 kan føre til multimedikamentell resistens (MDR). ABCB2 og ABCB3 er involvert i antigenpresentasjon og mutasjoner i disse er forbundet med immundefekt og Sjögrens syndrom<sup>36,37</sup>. Mutasjoner i ABCB7 fører til sideroblastanemi<sup>29</sup>.

| Gen       | Lokalisasjon | Ekspresjon                         | Funksjon                           |
|-----------|--------------|------------------------------------|------------------------------------|
| ABCB1/Pgp | 7p21         | Binyrer, nyrer, hjerne, GI-tractus | Multimedikamentell resistens (MDR) |
| ABCB2     | 6p21         | Alle vev                           | Peptidtransport                    |
| ABCB3     | 6p21         | Alle vev                           | Peptidtransport                    |
| ABCB4     | 7q21.1       | Lever                              | Fosfatidylkolintransport           |
| ABCB5     | 7p14         | Alle vev                           |                                    |
| ABCB6     | 2q36         | Mitochondrier                      | Jerntransport                      |
| ABCB7     | Xq12;-q13    | Mitochondrier                      | Fe/S transport                     |
| ABCB8     | 7q36         | Mitochondrier                      |                                    |
| ABCB9     | 12q24        | Hjerte, hjerne                     |                                    |
| ABCB10    | 1q42         | Mitochondrier                      |                                    |
| ABCB11    | 2q24         | Lever                              | Gallesalttransport                 |

### ABCC

I denne gruppen finner man multidrug resistance proteinene (MRP) og CFTR, som alle er heltransportører og blant annet er involvert i ion- og toxintransport, medikamentresistens og signaltransduksjon<sup>32</sup>. Mutasjoner i CFTR-genet fører til cystisk fibrose, den vanligste genetiske sykdommen blant europeere. 1 av 25 er bærere av denne mutasjonen som ved homocytotitet fører til defekt Cl-transport. Den høye frekvensen kan kanskje forklares ved fordeler hetrocygote bærere har i form av økt resistens mot bakterielle toxiner fra *V. cholerae*

og *E. coli*<sup>38</sup>. ABCC8-mutasjoner fører til persisterende hyperinsulinemisk hypoglykemi på grunn av uregulert insulinsekresjon<sup>17</sup>.

| Gen    | Lokalisasjon | Ekspresjon                | Funksjon              |
|--------|--------------|---------------------------|-----------------------|
| ABCC1  | 16p13.1      | Lunger, testes            | Medikamentresistens   |
| ABCC2  | 10q24        | Lever                     | Anionefflux           |
| ABCC3  | 17q21.3      | Lunger, GI-tractus, lever | Medikamentresistens   |
| ABCC4  | 13q32        | Prostata                  | Nucleosidtransport    |
| ABCC5  | 3q27         | Alle vev                  | Nucleosidtransport    |
| ABCC6  | 16p13.1      | Nyrer, lever              |                       |
| CFTR   | 7q31.2       | Exocrine vev              | Cl-transport          |
| ABCC8  | 11p15.1      | Pancreas                  | Sulfonylurea-reseptor |
| ABCC9  | 12p12.1      | Hjerte, muskler           |                       |
| ABCC10 | 6p21         | Lagt i alle vev           |                       |
| ABCC11 |              | Lagt i alle vev           |                       |
| ABCC12 |              | Lagt i alle vev           |                       |

### ABCD

Består av fire halvtransportører som alle befinner seg i peroxisomer og er involvert i lipidmetabolisme. Mutasjoner i ABCD1 fører til adrenoleukodystrofi (ALD), en dødelig tilstand som rammer menn og fører til destruksjon av myelin og akkumulasjon av ikke-forgreinede mettede fettsyrer i hjernen og binyrebarken<sup>39</sup>.

| Gen   | Lokalisasjon | Ekspresjon  | Funksjon |
|-------|--------------|-------------|----------|
| ABCD1 | Xq28         | Peroxisomer |          |
| ABCD2 | 12q11;-q12   | Peroxisomer |          |
| ABCD3 | 1p22;-p21    | Peroxisomer |          |
| ABCD4 | 14q24.3      | Peroxisomer |          |

### ABCE

Genet i denne klassen koder for NBDene, men ikke TMDene. ABCE1 gjenkjenner oligoadenylat som produseres av celler som utsettes for enkelte virusinfeksjoner, og spiller sannsynligvis en rolle i immunforsvaret<sup>29</sup>.

| Gen   | Lokalisasjon | Ekspresjon            | Funksjon             |
|-------|--------------|-----------------------|----------------------|
| ABCE1 | 4q31         | Ovarier, testes, milt | Binder oligoadenylat |

### ABCF

Disse genene koder for NBDene, men ikke TMDene<sup>29</sup>.

| Gen   | Lokalisasjon | Ekspresjon | Funksjon |
|-------|--------------|------------|----------|
| ABCF1 | 6p21.33      | Alle vev   |          |

|       |      |          |  |
|-------|------|----------|--|
| ABCF2 | 7q36 | Alle vev |  |
| ABCF3 | 3q25 | Alle vev |  |

## ABCG

Inneholder fem halvtransportører som, i motsetning til andre ABC-gener, har NBDene i N-enden og TMDene i C-enden av sekvensene<sup>40</sup>. ABCG-transportørene er sentrale i lipidtransporten spesielt i levera og enterocytene.

| Gen   | Lokalisasjon | Ekspresjon           | Funksjon                         |
|-------|--------------|----------------------|----------------------------------|
| ABCG1 | 21q22.3      | Alle vev             | Kolesteroltransport              |
| ABCG2 | 4q22         | Placenta, GI-tractus | Toxinefflux, medikamentresistens |
| ABCG4 | 11q23        | Lever                |                                  |
| ABCG5 | 2p21         | Lever, GI-tractus    | Steroltransport                  |
| ABCG8 | 2p21         | Lever, GI-tractus    | Steroltransport                  |

## Humane ABC transportørers evolusjon

På molekylært nivå drives evolusjonen i stor grad av genduplikasjon<sup>41</sup>, hvilket i utgangspunktet er en feil der en celle etter å ha gjennomgått celledeling utilsiktet får fordoblet deler av genomet. Duplikasjonen resulterer vanligvis i at de eventuelle ekstra genkopiene ikke uttrykkes eller med tiden ødelegges av mutasjoner. En annen mulighet er at de opprinnelige funksjonene deles mellom de nye og gamle genene, såkalt *subfunctionalization*. En tredje mulighet, hvilken er den som i størst grad vil bidra til evolusjon, er *neofunctionalization* som innebærer at de opprinnelige genene forblir uendret, mens de nye over tid utvikler nye egenskaper og funksjoner. Disse nye genene kalles paraloger.

NBDene, som er om lag 200 aminosyrer lange, er som nevnt svært konserverte og er derfor utmerkede utgangspunkt for fylogenetiske analyser. En omfattende analyse av ABC-genene hos kappedyret gul sjøpung (*Ciona intestinalis*) (33 gener), zebrafisk (52 gener), kylling (41 gener), hund (51 gener) og menneske (48 gener) ga interessante resultater<sup>31</sup>: 94 % av humane ABC-gener har orthologe hos hunder, 85 % hos kylling, 77 % hos zebrafisk og 40 % hos gul sjøpung. Svært mange ABC-gener finnes tilnærmet identiske hos alle de undersøkte artene. Disse kan antas å kode for transportører med vitale funksjoner, som på grunn av sårbarhet overfor mutasjoner ikke har endret seg nevneverdig gjennom historien. Andre studier har bekreftet at de fleste humane ABC-genene er konserverte hos andre vertebrater og at det blant pattedyr er svært liten variasjon innen denne genfamilien<sup>32</sup>.

Selv om det er mange likheter i de undersøkte genrepertoarene, finnes det også mange forskjeller. Gener som kun finnes i enkelte delgrupper og slekter er i stor grad paraloger og koder trolig for spesialiserte transportører. Generelt har gener som uttrykkes i de fleste celletyper (ABCE, ABCF, ABCB halvtransportører og ABCC) gjennomgått få duplikasjoner i alle undersøkte arter, mens ABCA, ABCB heltransportører og ABCG har gjennomgått flest. Sekvenslikheter avslører ni sannsynlige paraloger hos mennesket, nemlig ABCA6, 8-10, 13, ABCB4- 5, ABCC11 og ABCG4, hvorav ABCB10 kun finnes hos primater<sup>31</sup>. ABCA6, 8-10 ligger for eksempel alle på kromosom 17 og har 38 introner, i motsetning til de øvrige ABCA-genene som ligger spredt rundt i genomet og har 50-51 introner. Videre korrelerer intron-lokalisasjonene og exon-størrelsene i høy grad hos paralogene, momenter som også tyder på nært evolusjonært slektskap<sup>32</sup>.

Det er også funnet tre gener som ikke lengre er aktive hos mennesket, men som fortsatt uttrykkes hos andre pattedyr, altså eksempler på nyere såkalt gendød<sup>31</sup>.

*ABC-genene har altså forholdt seg relativt stabile gjennom historiens vekslende epoker, noe som vitner om viktige funksjoner. Selv om nye transportører har utviklet seg, har den grunnleggende strukturen og mekanismen forblitt den samme. Fylogenetiske analyser har avdekket fascinerende genetiske likheter mellom jordas organismer og antyder at ABC-genene har røtter milliarder av år tilbake i tid. Dette gjør dem til interessante gener å studere på mange vis.*

## Regulering av ABC-genenes transkripsjon

Kjernerreseptorer spiller en stor rolle i reguleringen av ABC-genenes transkripsjon. Ligandene som bindes til kjernereseptorene kan være medikamenter, hormoner eller endogene metabolitter som gallsalter, retinoider eller fettsyrer<sup>42</sup>. De fleste kjernereseptorene må danne dimere med retinsyre X-reseptor  $\alpha$  (RXR $\alpha$ ) for å kunne binde seg til ABC-genenes promotorer<sup>86</sup>. Antallet reseptorer og ligander er likevel stort, og transkripsjonen av de ulike ABC-genene vil sannsynligvis kunne reguleres på en lang rekke måter.

For å få et innblikk i kompleksiteten i transkripsjonsreguleringen, kan man se på mekanismene bak endringer i ABCB1-uttrykket. Kartleggingen av de ulike signalveiene og transkripsjonsfaktorene som regulerer ABCB1-transkripsjonen har vist seg å være en svært

omfattende og vanskelig oppgave. Så langt har blant annet MAP-kinase-, PI3Kinase-, PKC- og NF- $\kappa$ B-signalveiene<sup>43</sup> samt multiple bindingssteder for transkripsjonsfaktorer vist seg å være involvert. Videre er det påvist forskjeller mellom normale, friske celler og celler som utsettes for stress. Selv om reguleringen i friske celler nok hovedsakelig skjer via ligander som binder til kjernereseptorer, er det trolig at induksjonen i mange tilfeller skjer som en del av større interagerende systemer som involverer flere gener med ulike oppgaver.

Et av disse interagerende systemene involverer ABCB1 og CYP3A, enzymet som metaboliserer 60 % av alle medikamenter og finnes i store mengder i enterocytene og levera. Etter hvert som listen over kjente ABCB1-substrater har vokst, har det vist seg at ABCB1 og CYP3A har svært mange felles substrater<sup>44</sup>. Proteinene har også komplementære uttrykksmønstre<sup>45</sup>, spesielt i tynntarmsepitelet. Den slagkraftige kombinasjonen av metabolsk biotransformasjon ved CYP3A og aktiv utpumping ved ABCB1 beskytter cellen mot opphopning av potensielt toksiske molekyler, men fører også til nedsatt biotilgjengelighet for en rekke medikamenter. Transkripsjon av ABCB1 og CYP3A-genet involverer mange av de samme faktorene, blant annet RXR $\alpha$  og pregnane X-reseptoren (PXR), og peker i retning av en mulig coinduksjon av de to genene<sup>46</sup>.

Celler som utsettes for stress iverksetter en rekke uspesifikke signalveier som har som formål å bedre cellens indre miljø og overlevelsessjanser. Mange av disse signalveiene resulterer i økt uttrykk av ABCB1, og pumpen anses derfor for å være en viktig del av det cellulære forsvaret mot endogent og eksogent stress. Med endogent stress menes for eksempel glukosemangel, anaerob metabolisme, hypoksi, dannelse av frie radikaler og acidose. Kjemo- og stråleterapi er eksempler på eksogent stress. Felles for stressreaksjonene er økt dannelse av reaktive oksygenforbindelser (ROS) med en påfølgende ubalanse i det normalt så finjusterte forholdet mellom oksidanter og antioksidanter<sup>46</sup>. ROS er trolig ikke bare skadelige molekyler, men tar også del i stressresponsen som leder til endringer i genuttrykket, blant annet oppjusteringen av ABCB1. Nøyaktig hvordan ROS er involvert i disse mekanismene er foreløpig uavklart, men man vet blant annet at proteinfosforylering, som er en grunnleggende mekanisme i cellens virke, avhenger av en velregulert redox-status<sup>47</sup>.

Mange tumorceller lider under stress i form av nedsatt blodtilførsel og påfølgende oksygenmangel. Dette fører til anaerob respirasjon og acidose på grunn av opphopningen av sure metabolitter som laktat og pyruvat. Tumorvev er derfor surere enn sunt vev, ofte med

pH < 6<sup>48</sup>. Studier har vist at acidose aktiverer transkripsjonsfaktorene NF-kB og AP-1, som begge regulerer ABCB1<sup>49</sup>. Celler som i en annen studie ble utsatt for sur extracellulærvæske, fordoblet ABCB1-uttrykket etter 3-6 timer<sup>50</sup>. Hypoksi i seg selv ser også ut til å oppjustere ABCB1-uttrykket gjennom transkripsjonsfaktoren HIF-1a<sup>51</sup>. Studier har videre vist at også glukosemangel og makrofaginfiltrasjon øker uttrykket av ABCB1, men de eksakte mekanismene er heller ikke her kjent<sup>46</sup>.

Stressede celler øker altså uttrykket av ABCB1 i håp om overlevelse. Dessverre økes ABCB1-uttrykket også i tumorceller som tilsiktet utsettes for stress i form av kjemo- eller stråleterapi. Slike celler er ofte kraftig stresset i utgangspunktet og har således et høyt ROS-nivå. Kjemoterapi forårsaker en ytterligere dramatisk økning i ROS-konsentrasjonen som vil overskride cellens kompensatoriske kapasitet i form av enzymatiske og ikke-enzymatiske antioksidanter<sup>52</sup>. Selv om høye ROS-verdier på mange måter er målet ved behandlingen, kan det også betraktes som et tveegget sverd, idet høye konsentrasjoner fører til apoptose eller necrose, mens forbigående, subletale nivåer fører til oppregulering av blant annet ABCB1 hvis funksjon det er å holde liv i cellen og fører til medikamentresistens<sup>53</sup>. Stråleterapi påvirker også ABCB1-uttrykket. Forsøk har vist at celler som overlever ioniserende stråling øker uttrykket av ABCB1 og blir dermed mer resistente mot oppfølgende kjemoterapi<sup>54</sup>.

*ABC-genene kan altså induseres på en lang rekke måter, avhengig av situasjon og tilstand. Det vil nok ta mange år før man får en fullstendig oversikt over de mange og kompliserte veiene som leder til økt eller nedsatt ABC-gen-uttrykk.*

## **ABC-transporteres rolle i farmakokinetikken**

### **Farmakologi – et overblikk**

Farmakologi er en ung vitenskap og hadde, som så mange andre relaterte disipliner, sitt utspring i tyske vitenskaplige miljøer på 1800-tallet. Det første farmakologiske institutt ble åpnet i 1847<sup>55</sup> i Tartu i dagens Estland, en by som den gang hadde sterke intellektuelle og politiske bånd til de tyske statene. Etter årtusener med mystiske og religiøse forklaringsmodeller, ble medisiners virkning nå betraktet som en kjemisk interaksjon mellom medikament og vev, og ideen om spesifikke reseptorer i celler og vev tok etter hvert form. Denne ideen var i og for seg ikke ny, allerede i 1690 filosoferte John Locke over emnet i sitt essay *Concerning human understanding*:

*“Did we but know the mechanical affections of the particles of rhubarb, hemlock, opium and a many we should be able to tell beforehand that rhubarb will purge, hemlock kill and opium make a man sleep...”*

Disse mekaniske affeksjonene, eller kjemiske interaksjonene som man vil si i dag, er nettopp hva farmakologi som vitenskap dreier seg om. Farmakologi deles inn i farmakodynamikk og farmakokinetikk, hvorav den sistnevnte er den mest interessante med tanke på ABC-transportører.

Mens farmakodynamikken sier noe om medikamenters virkning, beskriver farmakokinetikken hvordan legemidler beveger seg gjennom en organisme. Farmakokinetikken omfatter legemidlenes opptak i organismen (absorpsjon), fordeling mellom ulike vev og kroppsvæsker (distribusjon), fjernelse (eliminering) ved omdannelse til andre aktive eller inaktive produkter (metabolisme) og utskillelse fra kroppen (ekskresjon). Disse faktorene er med på å bestemme et medikaments virkningsstart, virketid og effektstyrke. Farmakokinetikken avhenger av medikamentets kjemiske egenskaper, administrasjonsmåte og pasientrelaterte faktorer som alder, kjønn, genetisk disposisjon, sykdom etc.

ABC-transportørene spiller viktige roller både i absorpsjonen, distribusjonen og ekskresjonen av medikamenter. Deres generelle rolle i farmakokinetikken vil nå bli presentert.

## **Absorpsjon og biotilgjengelighet**

Absorpsjon av medikamenter gjennom huden, slimhinner, blodkar, lymfekar eller andre vev i kroppen bestemmer et medikaments biotilgjengelighet som angir hvilken prosentandel av en gitt medikamentdose som når sentral sirkulasjon. Absorpsjonsgrad og -hastighet avhenger av absorpsjonsflatens permeabilitet og areal, medikamentets konsentrasjonsgradient, molekylstørrelse og ladning, forholdet mellom stoffets fettløselighet og vannløselighet, og om absorpsjonen skjer ved ren diffusjon eller også ved hjelp av fasilitert eller aktiv transport, samt graden av aktiv efflux. Intravenøst gitte legemidler kan sies å gi full biotilgjengelighet, mens peroralt, intramuskulært, subcutant og transdermalt administrerte medikamenters biotilgjengelighet vil avhenge av absorpsjonsgrad og eventuell førstepassasjemetabolisme.

## ABC-transportører i GI-tractus

Perorale legemidler må tåle lav pH og ulike nedbrytende GI-sekreter på sin ferd gjennom GI-tractus. Til tross for tøffe vilkår for transport og vekslende miljøer, gis de fleste medikamenter peroralt. Årsakene er blant annet lett anvendelighet, stabilitet, økonomiske forhold og pasientaksept.

Slimhinnen er munnen er relativt tynn og rikt vaskularisert, noe som gir god medikamentabsorpsjon, men med mindre medikamentene gis buccalt eller sublingualt, er tiden medikamentet oppholder seg i munnhulen for kort til at nevneverdig absorpsjon finner sted. Ventrikkelen har en stor absorpsjonsoverflate, men på grunn av dens tyktdekkende mucuslag og medikamentenes ofte korte transittid, er heller ikke her absorpsjonen særlig stor.

Tynntarmen er på grunn av sin store og relativt permeable overflate stedet der perorale medikamenter i hovedsak absorberes<sup>56</sup>. Lipofile medikamenter diffunderer passivt gjennom tarmepitelet, mens hydrofile medikamenter absorberes via spesifikke transportører i solute-carrier-familien (SLC) som enten fasiliterer passiv transport eller utnytter ionegradienter for cotransport.

Tynntarmsepitelet utgjør en selektiv barriere som begrenser opptaket av medikamenter fra tarmlumen til sentralsirkulasjonen. Det er to hovedruter gjennom denne barrieren: den *paracellulære* og den *transcellulære*. Små hydrofile, ioniserte medikamenter kan absorberes paracellulært, men på grunn av den store forekomsten av tight junctions mellom enterocytene reduseres dette opptaket til et minimum. Dermed foregår storparten av medikamentopptaket i tynntarmen transcellulært. I tillegg til tight junctions består barrieren av membranbundne ABC- og SLC-transportører og intracellulære metaboliserende enzymer som CYP, glutation-S-transferaser og UDP-glucuronosyl transferaser. Til sammen utgjør komponentene i barrieren en effektiv koordinert enhet som beviselig reduserer perorale medikamenters absorpsjon og biotilgjengelighet<sup>56</sup>.

Prinsipielt kan følgende skje med et medikament som enten diffunderer eller SLC-transporteres inn enterocytene fra tarmlumen: medikamentene kan ABC-pumpes uendret tilbake til tarmlumen (såkalt type 0-metabolisme) eller videre over den basolaterale membranen til portalsystemet. Medikamentene kan også utsettes for type I- eller type II-metabolisme før de ABC-pumpes tilbake til tarmlumen eller over den basolaterale

membranen (begge såkalt type III-metabolisme). Det er altså gjennom type 0- og III-metabolisme ABC-transportører kan redusere absorpsjonen av medikamenter<sup>57</sup>.

Medikamenter kan forøvrig også diffundere inn i enterocytterne fra blodet for så å pumpes ut i tarmlumen, hvilket vil si en aktiv ekskresjon<sup>56</sup>.

I enterocytterne finner man ABC-transportører i den apikale membranen mot tarmlumen og i den basolaterale membranen mot blodet. Pumpene er polart fordelt, det vil si at de ulike typene kun finnes i én av membranene. Generelt kan man si at apikale ABC-pumpers fysiologiske oppgave er å hindre absorpsjon av potensielt farlige forbindelser fra tarmlumen. Basolaterale ABC-pumper beskytter i første rekke enterocytterne mot akkumulasjon av skadelige stoffer som diffunderer inn i cellene fra blodet, men er også involvert i den enterohapatiske sirkulasjonen ved reabsorbering av blant annet gallesalter fra tarmlumen.

### **ABC-transportører i enterocyttenes apikale membran**

ABCB1 finnes i store mengder i enterocyttenes apikale membran, i økende gradienter fra duodenum til colon og krypt til villus<sup>56,57</sup>. Ettersom mesteparten av medikamentabsorpsjonen skjer i villiene, er plasseringen her ideell for effektiv utpumping av absorberte stoffer. Som tidligere nevnt, er det sannsynligvis en betydelig koordinering av ABCB1s og CYP-enzymenes aktivitet i enterocytterne. Med sin ekstremt vide substratspesifisitet reduserer ABCB1 absorpsjonen av blant annet cytostatika, antibiotika, antivirale midler, calciumkanalblokkere og immunsupprimerende midler<sup>86</sup>.

Den første klare indikasjon på at ABCB1 var involvert i medikamentabsorpsjon i tarmen, kom i 1993 da man i *in vitro*-forsøk viste at humane adenocarcinomaceller med overekspressjon av ABCB1 (Caco-2-celler) hadde ti ganger så høy efflux som influx av cellegiften vinblastin<sup>58</sup>. Samme studie viste også at ABCB1-aktiviteten ble blokkert av verapamil. *In vivo*-bevis for ABCB1s funksjon i enterocytterne fikk man etter at man tok i bruk knock-out(KO)-mus i forskningen i 1994. I en studie fra 1997 viste for eksempel at KO-mus hadde seks ganger høyere medikamentabsorpsjon av ABCB1-substratet paclitaxel enn wild-type(WT)-mus<sup>59</sup>. Senere har forsøk med blant annet medikamentene docatexel, vinblastin, etoposide, digoxin, indinavir, saquinavir, tacrolimus, nelfinavir og talinolol gitt tilsvarende resultater – ABCB1 transporterer medikamentene tilbake til tarmlumen og reduserer deres biotilgjengelighet<sup>101</sup>. KO-mus er for øvrig like levedyktige og fertile som WT-mus<sup>60</sup>, men er langt mer sårbare for

stress. For eksempel er KO-mus 50-100 ganger så sensitiv for pesticidet ivermectin, et nevrotoksisk ABCB1-substrat<sup>61</sup>.

Det er ikke funnet loss-of-function-mutasjoner i ABCB1 hos mennesket, men så langt er 50 nukleotidpolymorfismer (SNPer) påvist som muligens kan innvirke på ABCB1s ekspresjon og funksjon<sup>62</sup>. Det første eksempelet på såkalt genotypeavhengig biotilgjengelighet kom i 2000, da det ble påvist en signifikant korrelasjon mellom mutasjonen 3435C>T (SNP i exon 26) og økt biotilgjengelighet av ABCB1-substratet digoxin<sup>63</sup>. Homocygote bærere hadde nedsatt ekspresjon av ABCB1 i enterocytene og økte digoxin-verdier i plasma. Senere studier har vist at frekvensen 3435>T-mutasjonen varierer mellom ulike folkeslag. Hos europeiske kaukasiere er for eksempel mutasjonsraten 0,52-0,57, hos afrikanere 0,17-0,27 og hos asiater 0,41-0,47<sup>64</sup>. En nyere studie antyder videre en mulig sammenheng mellom 3435>T-mutasjonen og ulcerøs colitt<sup>65</sup>. Kunnskapen om genotypeavhengig biotilgjengelighet kan gi muligheter for utvikling av individ- og etnisitetstilpassede medikamenter i fremtiden.

En mengde studier viser altså at ABCB1 reduserer absorpsjonen av perorale medikamenter i tynntarmen. Prekliniske og kliniske studier viser videre at disse medikamentenes biotilgjengelighet kan forbedres kraftig ved samtidig bruk av ABC-inhibitorer. Allerede i 1979 ble det observert at quinidin gitt sammen med digoxin resulterte i økt biotilgjengelighet av digoxin. At de to stoffene var henholdsvis en ABCB1-inhibitor og et ABCB1-substrat ble ikke klart før tidlig på 90-tallet, da ulike studier viste at kombinasjonen førte til 30 % økt biotilgjengelighet, 35 % nedsatt biliær sekresjon og 29 % nedsatt renal eliminering av digoxin<sup>75</sup>. Siden har man funnet en rekke inhibitorer som bedrer biotilgjengeligheten av ABC-substrater. I en fase I-studie ble biotilgjengeligheten av paclitaxel hos en gruppe cancerpasienter åttedoblet ved samtidig inntak av med inhibitoren CsA<sup>66</sup>. Tilsvarende kombinasjon ble i fase II-studier gitt til pasienter med ikke-småcellet lungekreft, avansert magekreft og brystkreft. Samtlige hadde lovende resultater og kombinasjonen har potensial til å bli standardbehandling for disse pasientgruppene i fremtiden<sup>101</sup>. Per i dag kan om lag en fjerdedel av alle cytostatika tas peroralt, men etter hvert som kunnskapen om medikamentenes interaksjon med ABC-transportører blir bedre, er det ventet at andelen vil øke. Kanskje vil kombinasjonen av perorale cytostatika og inhibitorer vise seg å være like effektiv som intravenøs behandling, med alle de fordeler dette ville innebære. Samme prinsipp vil selvsagt også gjelde for andre medikamentgrupper.

Selv om bruken av inhibitorer kan være tilsiktet, er det vist at også stoffer inntatt i mat og drikke kan blokkere ABCB1-aktiviteten. Grapefruktjuice inhiberer både ABCB1 og CYP3A4<sup>67</sup>, hvilket dramatisk kan øke medikamenters biotilgjengelighet og føre overdoseringer og bivirkninger. Johannesurt brukes som krydder i brennevin og finnes også i fem naturpreparater solgt gjennom apotek i Norge<sup>68</sup>. Et forsøk viste at en enkelt dose Johannesurt økte opptaket og plasmakonsentrasjonen av ABCB1-substratet fexofenadin med 45 %, men at langtidsbruk førte til en nedgang på 35 % på grunn av induksjon av både CYP3A4 og ABCB1<sup>69</sup>. Det kan derfor være vanskelig både å kontrollere og forutsi virkningen av inhibitorer ettersom mange cellulære mekanismer vil påvirkes av dette.

ABCG2 uttrykkes i stor grad i enterocyttenes apikale membran i jejunum, men også i duodenum, ileum og colon<sup>56</sup>. ABCG2 inhiberes av flavonoider, stoffer som finnes blant annet i citrusfrukt, kakao, rødvin og te. Stort inntak av disse matvarene kan innvirke på farmakokinetikken til ABCG2-spesifikke legemidler og føre til økt opptak<sup>102</sup>.

ABCC2 finner man apikalt i villiene i duodenum og jejunum. ABCCenes rolle i enterocytterne er foreløpig lite studert og lite er derfor kjent om deres funksjon. ABCC2 har mange felles substrater med ABCB1 og transporterer blant annet konjugerte og ikke-konjugerte anioniske forbindelser og glutation-konjugater. ABCC2 reduserer opptaket av carcinogenet PhiP<sup>70</sup> som blant annet finnes i proteinrik mat som har vært utsatt for høy varme. Inhibitorer er foreløpig lite studert.

### **ABC-transportører i enterocyttenes basolaterale membran**

ABCC1 finner man i den basolaterale membranen i cryptcellene i tynntarmen der den transporterer blant annet cellegiftene vincristin, daunorubicin og doxorubicin, tungmetallanioner, cytotoxiske anioner, hydrofobiske medikamenter og forbindelser konjugerte eller i kompleks med glutation (GSH), glukouronsyre og sulfat<sup>56</sup>. I likhet med andre transportører i den basolaterale membranen er ABCC1s oppgave trolig å beskytte cellen mot toksiske substrater ved å pumpe disse ut av cellen til blodet. Dens spesifikke rolle er foreløpig ikke klart definert og ingen effektive og selektive inhibitorer for ABCC1 er foreløpig funnet.

ABCC3 befinner seg basolateralt i villiene i hele tynn- og tykktarmen, men spesielt i ileum og colon. En stor affinitet for gallesalter antyder en rolle i gallesaltreabsorpsjon og den enterohepatiske sirkulasjonen<sup>56</sup>. ABCC3 har mange felles substrater med ABCC2 og BSEP.

ABC4-6 er også påvist i GI-tractus, men deres roller er foreløpig ikke klarlagt.

*ABC-transportørene har altså en massiv innvirkning på perorale medikamenters absorpsjon og bestemmelsen av deres biotilgjengelighet. Det er vist at ABC-aktiviteten reduserer opptaket gjennom aktiv transport av medikamentene tilbake til tarmlumen. Videre har man funnet at absorpsjonen kan økes ved samtidig administrasjon av inhibitorer, men også at medikament-interaksjoner kan ha føre til utilsiktede effekter i form av nedsatt eller økt absorpsjon. Framtidens perorale medikamenter vil måtte ta hensyn til disse prinsippene og vil forhåpentligvis ha en design som gi bedre absorpsjon og biotilgjengelighet.*

### **ABC-transportører i huden**

Intakt hud er lite permeabel for medikamenter og andre xenobiotika og kun svært lipofile stoffer absorberes transdermalt. Stratum corneum er det ytterste hudlaget og er på grunn av sin lipidlamellforsterkede struktur ansett for å være hovedbarrieren for penetrerende medikamenter<sup>71</sup>. I tillegg til den rent fysiske barrieren, har hudcellene et batteri av metabolske enzymer, særlig i keratocytene, som modifierer medikamenter og andre xenobiotika til hydrofile metabolitter. Disse metabolittene transporteres ut i blodbanen via kapillærer mellom epidermis og dermis.

ABC-transportørenes rolle i hudfarmakologien har vært lite studert, men ABCB1, ABCC1 og ABCG2 er alle funnet uttrykt i hudceller<sup>72,73</sup>. Det ser ut til at ABCC1 bidrar til efflux av medikamenter gitt intravenøst fra hudceller til blodet, men eventuell innvirkning på transdermal absorpsjon er ikke undersøkt. ABCG2s funksjon foreløpig ikke er studert. Et nyere *in-vivo*-forsøk på mus har vist at ABCB1 bidrar til økt transdermal absorpsjon<sup>72</sup>. I denne studien hadde WT-mus høyere transepidermal absorpsjon av det antimycotiske middelet itraconazole enn KO-mus, hvilket var et uventet resultat ettersom ABCB1 vanligvis forhindrer absorpsjon. Samme studie viste at KO-mus hadde større opptak av itraconazole fra blod til hud enn WT-mus, hvilket harmonerer med den generelle oppfatningen av ABCB1s

funksjon. Samlet ser det dermed ut til at ABCB1 bidrar til økt transdermal absorpsjon, noe som utviklere av nye hudappliserte legemidler kanskje bør legge seg på minne.

*Det gjenstår altså mye forskning før ABC-transportørens fordelig og eventuelle polarisering i hudlagene og -cellene er kartlagt. Når dette arbeidet er fullført vil man forhåpentligvis få en bedre forståelse av ABC-transportørens oppgaver i huden og innvirkning på transdermal absorpsjon av medikamenter.*

## **Distribusjon**

Distribusjon er et begrep som betegner hvordan et legemiddel blir fordelt i kroppen, fra det blir inntatt og til det er eliminert. Etter at legemiddelet på ulikt vis når sentral sirkulasjon, fordeles det fra blodbanen og ut til ulike vev (distribusjonsfasen) samtidig som eliminering pågår. Distribusjonshastigheten til de ulike vevene avhenger av vevenes blodtilførsel, masse og permeabilitet, samt legemiddelets evne til å binde plasmaproteiner og til komponenter i de enkelte vev. Distribusjonshastigheten vil derfor variere enormt for ulike medikamenter. Når distribusjonsfasen er over vil legemiddelet transporteres tilbake til blodet etter hvert som stadig mer elimineres (redistribusjonsfasen).

ABC-transportørene har vist seg å redusere distribusjon av ulike medikamenter til blant annet CNS, lungene, placenta, testes og hjertet<sup>74</sup>. Dette skjer gjennom en aktiv utpumping av stoffene enten fra hinner/barrierer som omgir vevene eller fra selve vevscellene<sup>75</sup>. Et medikaments distribusjon og akkumulering i et vev vil derfor i mange tilfeller ikke primært avgjøres av dets evne til å entre vevscellene, men tvert imot dets tendens til å forlate dem.

## **ABC-transportører i blod-hjerne-barrieren**

ABC-transportørens rolle i distribusjonen av legemidler kan best illustreres ved ABCB1s aktivitet i blod-hjerne-barrieren (BHB). BHB omgir store deler av hjernen og består av kapillærenes endotelceller omgitt av et lag astrocytter. Barrieren har kroppens høyeste forekomst av tight junctions, betinger transcellulær absorpsjon og forhindrer opptak av polare og proteinbundne medikamenter. Lipofile legemidler kan fritt diffundere gjennom barrieren og har således høyere distribusjonshastighet. ABCB1 ble funnet i BHB i 1992<sup>76</sup> som den første av foreløpig 15 medikamenttransportører<sup>77</sup>. I likhet med de andre identifiserte

transportørene, befinner ABCB1 seg i endotelcellenes luminale membran hvor den pumper medikamenter ut av cellene til blodet.

Kunnskapen om ABCB1s rolle i medikamentdistribusjon til hjernen kommer hovedsaklig fra forskning på KO-mus. En rekke studier har sammenlignet konsentrasjonen av engangsdoserte ABCB1-substrater i hjerner hos KO- og WT-mus og har konkludert med at ABCB1 klart begrenser distribusjonen til CNS. For eksempel var konsentrasjonen av metadon, nefinavir, guinidin, ivermectin, amidaron, digoxin og verapamil minst ti ganger høyere i KO-musenes hjerner enn i WT-musenes<sup>77</sup>. Morfin hadde kun 1,7 ganger så høy konsentrasjon, mens loperamid-konsentrasjonen var hele 65 ganger så høy<sup>78</sup>. Undersøkte antidepressiva og antipsykotika var bare moderat forhøyet med opptil 2,5 ganger så høy konsentrasjon<sup>77</sup>.

Selv om konsentrasjonen var økt etter én dose, kan distribusjonen ved langtidsbehandling likevel være annerledes. En studie der det trisykliske antidepressivet og ABCB1-substratet amitriptylin ble gitt i 10 dager påviste ingen signifikant forskjell i konsentrasjonene hos KO- og WT-mus<sup>79</sup>. Resultatet kan kanskje forklares ved at aktiviteten i andre ABC-transportører med lignede substratspesifisitet ble oppjustert. Ekspresjonen av ABCG2, som har overlappende substratspesifisitet med ABCB1, er for eksempel tre ganger høyere hos mus som mangler ABCB1 enn WT-mus<sup>80</sup>.

Det er altså klart at ABCB1 i stor grad begrenser mange medikamenters distribusjon til CNS. På bakgrunn av dette er det gjort flere forsøk med koadministrering av inhibitorer for å bedre distribusjonen. Man har blant annet undersøkt effekten av antiepiletika gitt sammen med inhibitorer med vellykket resultat. ABCB1 uttrykkes normalt ikke i neuroner, men forsøk har vist at neuroner i hippocampus hos rotter begynner å uttrykke ABCB1 etter kjemisk induert status epilepticus<sup>81</sup>. Neuronal ekspresjon er også påvist hos pasienter med epilepsi<sup>81</sup>. Dette har fått forskere til å spekulere i om ABCB1 kan være involvert i såkalt medikament-refraktær epilepsi og om ABCB1-inhibitorer kan være nøkkelen til bedre behandling av denne pasientgruppen. En mulig kobling mellom 3435>T-mutasjonen og epilepsi er også undersøkt, men har foreløpig gitt sprikende resultater<sup>82,83</sup>. Generelt har ABCB1-polymorfismer ikke vist seg å innvirke på medikamentdistribusjonen til hjernen i særlig stor grad.

Selv om det kan være mange fordeler med bruk av inhibitorer, må man i konteksten CNS være særlig oppmerksom på risikoen for utilsiktede neurotoksiske reaksjoner. Flere studier har

avdekket uheldige bivirkninger. Koadministrasjon av peroral loperamid og ABCB1-inhibitoren kinidin gir for eksempel betydelig respiratorisk depresjon hos friske forsøkspersoner<sup>84</sup>. Faren for uheldige medikament-interaksjoner er også til stede, men foreløpig er få studier gjennomført på dette feltet.

Kunnskapen om ABCB1 og andre ABC-transportørens aktivitet i BHB er av særlig interesse for utviklere av nye antiepileptika, cytostatika, infeksjonshemmende stoffer og andre psykoaktive medikamenter. I de senere år er det også blitt spekulert i om ABCB1 i seg selv kan være årsak til sykdom. Det er blant annet fremsatt en teori om at ABCB1 transporterer  $\beta$ -amyloid ut av hjernen og derigjennom medvirker til utviklingen av Alzheimers sykdom<sup>85</sup>.

*Det er altså vist at ABC-transportørene begrenser medikamentdistribusjonen til CNS, placenta, testes, hjertet og lungene. Prinsippet og mekanismene er i stor grad de samme som i enterocyttenes apikale membran. Pumpenes egentlige funksjon er trolig å beskytte disse til dels svært sårbare vevene mot toksiske stoffer. Det vil derfor være en utfordring å konstruere nye medikamenter som gir bedre vevsdistribusjon uten samtidig å svekke ABC-transportørens viktige rolle i beskyttelsen av vevene.*

## **Metabolsime og ekskresjon**

Nedbrytningen av legemidler skjer i all hovedsak i leveren, men metabolisme av legemidler kan også skje andre steder, som i plasma, i enterocyttenes og andre vev. Lipofile medikamenter med høy molekylvekt skilles i hovedsak ut metabolisert eller umetabolisert i feces via gallen. Mange av disse midlene tas opp igjen i tynntarmen (enterohepatisk sirkulasjon) og kan således forbli lenge i kroppen før de skilles ut. Hydrofile legemidler skilles hovedsakelig ut uendret i nyrene.

## **ABC-transportører i leveren**

Med sitt batteri av CYP- og andre enzymer har hepatocyttenes hovedansvaret for medikamentmetabolismen<sup>86</sup>. Metabolismen skjer i prinsippet i to trinn. I det første trinnet, type I-metabolisme, gjøres medikamentene mer hydrofile ved demetylering eller hydroksylering. Imidlertid kan dette være utilstrekkelig for å få legemidlene skilt ut. I slike tilfeller kan større molekyler, slik som sulfat eller glukuronsyre, kobles på i

konjugeringsreaksjoner i type II-metabolisme, det andre trinnet. For visse legemidler, som paracetamol, oksazepam og morfin, kan glukuronsyre kobles på direkte uten noen forutgående type I-metabolisme. Som oftest inaktiveres medikamentet etter disse trinnene, men såkalte prodrugs blir første aktive etter metabolisering.

Levra har en fantastisk evne og kapasitet til å ekstrahere proteinbundne medikamenter fra blodet. For eksempel ekstraheres 80 % av kalsiumkanalblokkeren verapamil i løpet av en leverpassasje<sup>87</sup>. Ettersom levra hvert minutt gjennomstrømmes av  $\frac{1}{3}$  blodvolumet, spiller levra en enormt viktig rolle ikke bare i medikamentmetabolisme og -ekskresjon, men også i bestemmelsen av biotilgjengeligheten til intestinalt absorberte medikamenter gjennom førstepassasjemetabolisme av disse.

Transportørene som sørger for opptaket av proteinbundne medikamenter fra blodet er medlemmer av den tidligere omtalte SLC-familien, en gruppe på over 300 ulike proteiner som tilbyr passiv eller sekundær aktiv transport inn og ut av hepatocytene<sup>88</sup>. Ettersom transporten i mange tilfeller er passiv, vil transportretningen bestemmes av medikamentenes respektive konsentrasjoner. For at opptaket fra blodet skal være effektivt, må derfor medikamentkonsentrasjonen i hepatocytene være lavere enn i blodet, noe som besørges av intracellulær metabolisme og ABC-transportører i den canaliculære membranen. SLC-familien kan også transportere lipofile molekyler, men disse vil i stor grad fritt diffundere inn og ut av hepatocytene.

ABC-transportørene er altså viktige for effektiv medikamentopptak i levra, men har også flere andre oppgaver. I hepatocytene finner man ABC-transportører polart fordelt mellom den basolaterale og den canaliculære membranen, som vender henholdsvis mot blodet og gallegangene<sup>86</sup>. I en normalt fungerende hepatocyt finner man ABC-pumper hovedsakelig i den canaliculære membranen, der de pumper substrater over i gallen opp til dels svært bratte konsentrasjonsgradienter. Substratene er alle slags molekyler som enten utgjør en del av eller skilles ut gjennom gallen. I den basolaterale membranen finnes et lite antall, relativt lite aktive ABC-transportører. Deres oppgave er å beskytte cellen mot toksiske substrater ved å pumpe disse ut av cellen til blodet. Trolig frakter de også enkelte hydrofile medikamentmetabolitter som skal skilles ut via nyrene<sup>86</sup>.

### **ABC-transportører i hepatocyttenes canaliculære membran**

ABCB4 er ansvarlig for utskillelse av fosfolipider i gallen, men transporterer også medikamenter som digoxin, vinblastine og paclitaxel<sup>89</sup>. Mutasjoner i ABCB4 kan forårsake manglende uttrykk av ABCB4-transportører som resulterer i type 3 progressiv familiær intrahepatisk cholestase (PFIC3)<sup>90</sup>. Denne sykdommen fører til defekt fosfolipidsekresjon, høye serum  $\gamma$ -glutamyltransferaseverdier, men normal gallesalkonsentrasjon.

ABCB11 kalles også gallesalteksporøren ettersom den i hovedsak finnes i hepatocyttenes canaliculære membran der den transporterer primære og sekundære gallesalter med høy affinitet<sup>91</sup>. Mutasjoner i ABCB11 fører til type 2 progressiv familiær intrahepatisk cholestase (PFIC2)<sup>92</sup>, en tilstand med nedsatt gallesyresekresjon. ABCCB11 kan transportere blant annet vinblastin og calcein-acetoxymetyl-ester<sup>93</sup>, men den rolle i medikamentdisposisjonen ser foreløpig ut til å være begrenset.

ABCC2 transporterer både konjugerte og ikke-konjugerte anioner over i gallen, og deler mange substrater med den nært beslektede ABCC1<sup>86</sup>. ABCC2 bidrar til gallesyreutskillelse, men frakter i motsetning til ABCB11 kun sulferte gallesalter<sup>94</sup>. Pumpens hovedoppgave er trolig detoxifisering gjennom utskillelse av metabolitter til gallen. I tillegg til utskillelse av fysiologiske og xenobiotiske metabolitter, sekreterer ABCC2 også en lang rekke umodifiserte medikamenter, blant annet vinblastin, vincristine, doxorubisin, cisplatin, fluroquinolone antibiotika og HIV proteaseinhibitorer<sup>86</sup>. En rekke flavonoider er som nevnt også substrater. Ettersom ABCC2 frakter konjugerte forbindelser, har transporteren og fase-II metaboliserende enzymer trolig en viss ekspressjonskoordinering<sup>86</sup>.

ABCB1 skiller ut amfipatiske organiske kationer og nøytrale forbindelser, men uttrykkes i liten grad i levra.

### **ABC-transportører i hepatocyttenes basolaterale membran**

ABCC1, C3-6 finnes i små mengder i den basolaterale membranen<sup>86</sup>.

Selv om det normalt sett er få og lite aktive ABC-pumper i den basolaterale membranen, er det i flere studier vist at aktiviteten kan oppreguleres under spesielle forhold. ABCC1 oppreguleres for eksempel ved cholestase og ved leverregenerering etter skade<sup>95</sup>. Dette tyder på at pumpene i den basolaterale membranen fungerer som et back-up-system som aktiveres når transporten av substrater over den canaliculære membranen er blokkert eller mettet.

Adaptiviteten i systemet og det faktum at pumpene i den canaliculære og basolaterale membranene har til dels felles substratspesifisitet, sikrer dermed at medikamenter som normalt skilles ut i gallen ved cholestase og andre forhold som hindrer normal ekskresjon, kan skilles ut i urinen via transport over den basolaterale membranen til blodet og nyrene. Den klassiske forklaringsmodellen som postulerer at lipofile medikamenter med høy molekylvekt skilles ut via gallen mens små hydrofile skilles ut via urinen, kan derfor presiseres og forklares ut fra ABC-pumpenes forekomst og substratspesifisitet i henholdsvis den canaliculære og den basolaterale membranen.

*ABC-pumpene er altså viktige for effektiv absorpsjon av medikamenter fra blodet til levra, de transporterer medikamenter over i gallen og inngår i et finstemt koordinert system for metabolisme og ekskresjon i hepatocytene.*

### **ABC-transportører i nyrene**

At nyrene er involvert i eliminasjon av medikamenter ble klart i 1923<sup>96</sup>, men kom først skikkelig på dagsorden etter at penicillin ble tatt i bruk under 2. verdenskrig. Det viste seg nemlig vanskelig å holde plasmakonsentrasjonen av det nye vidundermiddelet høy nok for effektiv behandling, et problem som ble tilskrevet rask eliminasjon gjennom nyrene. Dette var ikke bare et medisinsk problem, men også et økonomisk, ettersom konsentrert penicillin i tiden etter sin oppdagelse hadde en kilopris høyere enn gull<sup>9</sup>. Prisen falt riktignok raskt i takt med den økende tilgangen, men førte til at en av de første kompetitive inhibitorene, probenecid, ble utviklet i 1951<sup>97</sup>. Stoffet viste seg å begrense renal eliminasjon av penicillin og dermed var et nytt prinsipp innenfor farmakologien født: legemiddelinteraksjoner. Probenecids effekt viste seg senere å skyldes kompetitiv inhibering av en felles transportør i nyretubuli<sup>98</sup>.

I dag vet man at det i hovedsak er hydrofile legemidler som skilles ut via nyrene, gjerne uten forutgående metabolisme, og at eliminasjonen som oftest skjer passivt ved glomerulær filtrasjon. Enkelte legemidler skilles også ut i urinen via transportører i nyretubuli. Dette skjer i hovedsak gjennom tertiær aktiv transport via transportører i SLC-familien. Organiske aniontransportører (OATer) frakter for eksempel ut svake syrer som penicilliner, NSAID-preparater, metotreksat og probenecid, mens organiske kationtransportører (OKTer) frakter svake baser som trimetoprim<sup>98</sup>.

Det finnes også en del ABC-transportører uttrykt i nyretubuli. Proksimalt og i de apikale membranene uttrykkes blant annet ABCB1, ABCC2 og ABCC4<sup>98</sup>. Disse transporterer substrater absorbert fra blodet ut i urinen, blant annet hydrofobe og ladede medikamenter. Ettersom glomerulifiltrerte medikamenter, avhenging av fettløselighet og ioniseringsgrad, også kan diffundere inn i tubulicellene fra urinen, kan man anta at ABC-transportører i den apikale membranen også har som oppgave å hindre reabsorpsjonen av disse, på linje med deres funksjon i enterocytene og blod-hjerne-barrieren.

ABC-transportørene som uttrykkes i tubulicellenes basolaterale membranen finner man særlig i Henles sløyfe og i samlerørene<sup>98</sup>. Dette dreier seg primært om ABCC1, 3, 5 og 6. Disse har muligens som oppgave å øke absorpsjonen av enkelte stoffer fra urinen, i tillegg til å beskytte cellene mot opphopning av potensielle toksiske forbindelser.

Bruken av inhibitorer myntet på ABC-transportører i nyrene har vært lite undersøkt, og probenecid er fortsatt den mest anvendte. I tillegg til den gunstige effekten på penicillinsekresjonen, brukes også probenecid i kombinasjon med det antivirale medikamentet cidofovir for å begrense nefrotoxiske bivirkninger<sup>99</sup>. Et mulig bruksområde i fremtiden er sammen med Tamiflu, ettersom utskillelsen av også dette medikamentet forsinkes ved bruk av inhibitoren<sup>103</sup>. Probenecid ble for øvrig et hett tema innenfor sportsverdenen i 1988, da Tour De France-vinneren Pedro Delgado ble tatt i bruk av dette stoffet som også hindrer renal sekresjon av anabole steroider. Til tross for overveldende bevis på steroidmisbruk, slapp Delgado unna anklagene, og føyde seg dermed inn i den etter hvert så lange rekken av dopingtatte Tour De France-vinnere<sup>100</sup>.

*ABC-transportører uttrykkes til en viss grad i nyrene, men feltet har foreløpig vært gjenstand for få studier. Det er sannsynlig at transportørene aktivt sekreterer en del hydrofobe medikamenter fra nyretubulicellene og at de også forhindrer reabsorpsjon av substrater fra urinen. Prinsippet minner om det man ser i enterocytene, men de renale ABC-transportørene vil måtte studeres nøyere før deres presise rolle i farmakokinetikken kan fastslås.*

## Avslutning

Selv om forståelsen av ABC-transportørenes betydning for menneskets og andre organismers liv og virke etter hvert har blitt ganske god, ligger man fremdeles i startgropen for dette meget interessante og komplekse forskningsfeltet. Til tross for årtier med intens forskning, mangler fortsatt mange brikker i det store puslespillet som utgjør ABC-transportørenes innfløkte verden. Forhåpentligvis vil forskningen være fruktbar og resultere i bedre forståelse av disse fascinerende proteinene. Kanskje vil hittil ubesvarte gåter vedrørende kroniske sykdommer og behandlingsresistente tilstander finne sine svar innenfor ABC-transportørenes domene. Trolig vil forskere finne måter å manipulere transportørene på slik at medisiner og behandling av sykdom blir mer effektiv og mindre preget av bivirkninger. Det er derfor hevet over tvil at ABC-transportørene vil spille en fremtredende rolle i bio- og genteknologiforskningen i den kommende tiden, i det som omtales som *biologiens århundre*.

## Referanser

---

- <sup>1</sup> Majno and Joris. The Microscope in the History of Pathology. *Virchows A A.A Path. Anat.* 360, 273-286 1973.
- <sup>2</sup> Loeb, The Dynamics of Living Matter. Columbia University Biological Series, Vol. VIII. 1906. New York: Columbia University Press.
- <sup>3</sup> Hintzensterna et al., Development of the "lipoid theory of narcosis" in German-speaking countries in the 19th century: from Bibra/Harless to Meyer/Overton." *The history of anesthesia*, (2002) 1242. 609-612.
- <sup>4</sup> Gorter and Grendel. On bimolecular layers of lipids on the chromocytes of the blood. *Journal of Experimental Medicine*, (1925) 41. 439-443.
- <sup>5</sup> Robertson. "The molecular structure and contact relationships of cell membranes." *Progress Biophysics and Biophysical Chemistry*, (1960) 10, 343-418.
- <sup>6</sup> Pedersen. Transport ATPases into the year 2008: a brief overview related to types, structures, functions and roles in health and disease. *J Bioenerg Biomembr* (2007) 39:349–355.
- <sup>7</sup> Singer, Nicolson (1972). The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175 (23): 720-31.
- <sup>8</sup> Georgiou (1972). The evolution of resistance to pesticides. *Ann Rev Ecol Syst* 3:133–168.
- <sup>9</sup> Robert Bud (2007). *Penicillin - Triumph and tragedy*. Oxford University Press.
- <sup>10</sup> Sheps & Ling. Preface: the concept and consequences of multidrug resistance. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* (2007) 453:545–553.
- <sup>11</sup> Kessel, Botterill, and Wodinsky. *Cancer Res.* 28, 938–941.
- <sup>12</sup> Gottesman and Ling. The molecular basis of multidrug resistance in cancer: The early years of P-glycoprotein research. *FEBS Lett.* 2006 Feb 13;580(4):998-1009. Epub 2005 Dec 28.
- <sup>13</sup> See et al.. Increased drug permeability in Chinese hamster ovary cells in the presence of cyanide. *Biochim. Biophys. Acta*, 373. 242-252, 1974.
- <sup>14</sup> Juliano and Ling. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta*, 455. 152-162, 1976.
- <sup>15</sup> Bruce Alberts et al. *Molecular Biology of the Cell*. 4. utgave (2002).
- <sup>16</sup> Sakaeda, Nakamura, Okumura, (2003). Pharmacogenetics of MDR1 and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs (Review). *Pharmacogenomics* 4, 397–410.
- <sup>17</sup> Michael Dean. The Genetics of ATP-Binding Cassette Transporters. *Methods in Enzymology*, Vol 400 (2005).
- <sup>18</sup> Huls et al. The Role of ATP Binding Cassette Transporters in Tissue Defense and Organ Regeneration. *JPET* 328:3–9, 2009.
- <sup>19</sup> Higgins, C. F. 1992. ABC transporters: from micro-organisms to man *Annu. Rev. Cell. Biol* 8: 67–113.
- <sup>20</sup> Rees, Johnson, Lewinson (2009). ABC transporters: the power to change. *Nature reviews. Molecular cell biology*. 01/04/200904/2009; 10(3):218-27.
- <sup>21</sup> McDevit et al., Structural insights into P-glycoprotein (ABCB1) by small angle X-ray scattering and electron crystallography. *FEBS Letters* 582 (2008) 2950–2956.
- <sup>22</sup> Michael Dean. *Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2009 Mar;14(1):3-9.
- <sup>23</sup> Biemans-Oldehinkel, Deoven & Poolman. ABC transporter architecture and regulatory roles of accessory domains. *FEBS Lett.* 580, 1023–1035 (2006).
- <sup>24</sup> Davidson, Dassa, Orelle & Chen. Structure, function, and evolution of bacterial ATPbinding cassette systems. *Microbiol. Mol. Biol. Rev* 72, 317–364 (2008).

- 
- <sup>25</sup> Hollenstein, Dawson, & Locher. Structure and mechanism of ABC transporter proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 17, 412–418 (2007).
- <sup>26</sup> Jardetsky. Simple allosteric model for membrane pumps. *Nature* 211, 969–970 (1966).
- <sup>27</sup> Poolman et al. Functional analysis of detergent solubilized and membrane-reconstituted ABC transporters. *Methods Enzymol.* 400, 429–459 (2005).
- <sup>28</sup> Skou. The identification of the sodium–potassium pump (Nobel lecture). *Angew. Chem. Int. Edn Eng.* 37, 2320–2328 (1998).
- <sup>29</sup> Dean, Hamon, Chimini. The Human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Journal of Lipid Research*, vol 42 (2001).
- <sup>30</sup> Pehler et al., The human ABC transporter pseudogene family: Evidence for transcription and gene-pseudogene interference. *BMC Genomics* 2008, 9:165.
- <sup>31</sup> Michael Dean et al. Evolution of the vertebrate ABC gene family: Analysis of gene birth and death. *Genomics* 88 (2006) 1–11.
- <sup>32</sup> M. Dean (2002). The Human ATP-Binding Cassette (ABC)Transporter Superfamily.
- <sup>33</sup> Pehler et al. ABCA-transportører – regulatorer av den cellulære lipidtransporten. *Tidsskr Nor Lægeforen* nr. 22, 2007; 127: 2930–3.
- <sup>34</sup> Rust et al. (August 1999). Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1. *Nat. Genet.* 22 (4): 352–5
- <sup>35</sup> Lefevre et al. Mutations in the transporter ABCA12 are associated with lamellar ichthyosis type 2. *Hum.Mol.Genet.* 2003;12: 2369–78.
- <sup>36</sup> de la Salle et al. (1999). HLA class I deficiencies due to mutations in subunit 1 of the peptide transporter TAP1. *J. Clin. Invest.* 103, R9–R13.
- <sup>37</sup> Kumagai et al., (1997). Association of a new allele of the TAP2 gene, TAP2\*Bky2 (Val577), with susceptibility to Sjogren’s syndrome. *Arthritis Rheum.* 40, 1685–1692.
- <sup>38</sup> Gabriel et al., 1993. CFTR and outward rectifying chloride channels are distinct proteins with a regulatory relationship. *Nature.* 363: 263–268.
- <sup>39</sup> Mosser et al., 1993. Putative Xlinked adrenoleukodystrophy gene shares unexpected homology with ABC transporters. *Nature.* 361: 726–730.
- <sup>40</sup> Velamakanni et al. ABCG transporters: structure, substrate specificities and physiological roles. *J Bioenerg Biomembr* (2007) 39:465–471.
- <sup>41</sup> Ohno, *Evolution by Gene Duplication*, Springer-Verlag, New York, 1970.
- <sup>42</sup> Chawla, Repa, Evans, Mangelsdorf. Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files, *Science* 294 (5548) (2001) 1866–1870.
- <sup>43</sup> Shtil. Signal transduction pathways and transcriptional mechanisms as targets for prevention of emergence of multidrug resistance in human cancer cells. *Curr Drug Targets.* 2001;2: 57-77.
- <sup>44</sup> Kim, Wandel, Leake et al. Interrelationship between substrates and inhibitors of human CYP3A and P-glycoprotein. *Pharm Res.* 1999;16:408-414.
- <sup>45</sup> Wachter et al. Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P450 3A and Pgp: implications for drug delivery and activity in cancer chemotherapy. *Mol Carcinog.* 1995;13:129-134.
- <sup>46</sup> Richard Callaghan, Emily Crowley, Simon Potter and Ian D. Kerr. P-glycoprotein: So Many Ways to Turn It

- 
- On. *J. Clin. Pharmacol.* 2008; 48; 365.
- <sup>47</sup> Gabbita SP, Robinson KA, Stewart CA, Floyd RA, Hensley K. Redox regulatory mechanisms of cellular signal transduction. *Arch Biochem Biophys.* 2000;376:1-13.
- <sup>48</sup> Helmlinger G, Yuan F, Dellian M, Jain RK. Interstitial pH and pO<sub>2</sub> gradients in solid tumors in vivo: high-resolution measurements reveal a lack of correlation. *Nat Med.* 1997; 3: 177-182.
- <sup>49</sup> Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.* 1997;82:291-295.
- <sup>50</sup> Thews, Gassner, Kelleher, Schwerdt, Gekle. Impact of extracellular acidity on the activity of P-glycoprotein and the cytotoxicity of chemotherapeutic drugs. *Neoplasia.*2006;8:143-152.
- <sup>51</sup> Wartenberg et al. Regulation of the multidrug resistance transporter P-glycoprotein in multicellular tumor spheroids by hypoxia-inducible factor (HIF-1) and reactive oxygen species. *Faseb J.* 2003;17:503-505.
- <sup>52</sup> Corna, Santambrogio, Minotti, Cairo. Doxorubicin paradoxically protects cardiomyocytes against iron – mediated toxicity: role of reactive oxygen species and ferritin. *J Biol Chem.* 2004; 279:13738-13745.
- <sup>53</sup> Chaudhary, Roninson. Induction of multidrug resistance in human cells by transient exposure to different chemotherapeutic drugs. *J Natl Cancer Inst.* 1993; 85:632-639.
- <sup>54</sup> Nielsen, Maare, Eriksen, Litman, Skovsgaard. Expression of P-glycoprotein and multidrug resistance associated protein in Ehrlich ascites tumor cells after fractionated irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;51:1050-1057.
- <sup>55</sup> Rang. The receptor concept: pharmacology's big idea. *British Journal of Pharmacology* (2006) 147, S9–S16.
- <sup>56</sup> Lauretta et al. The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 21 (2004) 25–51.
- <sup>57</sup> C G Dietrich, A Geier, R P J Oude Elferink. ABC of oral bioavailability: Transporters as gatekeepers in the gut. *Gut* 2003;52:1788–1795.
- <sup>58</sup> Hunter et al. Functional expression of P-glycoprotein in apical membranes of human intestinal Caco-2 cells. Kinetics of vinblastine secretion and interaction with modulators. *J Biol Chem* 1993;268:14991–7.
- <sup>59</sup> Sparreboom et al. Limited oral bioavailability and active epithelial excretion of paclitaxel (Taxol) caused by P-glycoprotein in the intestine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:2031–5.
- <sup>60</sup> Schinkel et al (1997). Normal viability and altered pharmacokinetics in mice lacking mdr1-type (drug-transporting) P-glycoproteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 4028–4033.
- <sup>61</sup> Schinkel et al. 1994. Disruption of the mouse mdr1a P-glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drugs. *Cell*:77:491-50
- <sup>62</sup> Marzolini et al. 2004. Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin. Pharmacol. Ther.* 75, 13–33.
- <sup>63</sup> Hoffmeyer et al. (2000). Functional polymorphisms of the human multidrugresistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 97, 3473–3478.
- <sup>64</sup> Ingolf Cascorbi. Role of pharmacogenetics of ATP-binding cassette transporters in the pharmacokinetics of Drugs. *Pharmacology & Therapeutics* 112 (2006) 457–473.
- <sup>65</sup> Schwab et al. Association between the C3435T MDR1 gene polymorphism and susceptibility for ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 2003, vol. 124, n°1, pp. 26-33
- <sup>66</sup> Terwogt et al. Coadministration of oral cyclosporin A enables oral therapy with paclitaxel. *Clin Cancer Res*

- 
- 1999;5:3379–84.
- <sup>67</sup> Wang, et al., 2001. Inhibition of P-glycoprotein transport function by grapefruit juice psoralen. *Pharm. Res.* 18, 432–438.
- <sup>68</sup> www.legemiddelverket.no
- <sup>69</sup> Wang et al., 2002. Effect of St John's wort on the pharmacokinetics of fexofenadine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 71, 414–420.
- <sup>70</sup> Dietrich et al. Increased bioavailability of the food-derived carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in MRP2-deficient rats. *Mol Pharmacol* 2001;59:974–80.
- <sup>71</sup> Harding, The stratum corneum: structure and function in health and disease, *Dermatol. Ther.* 17 (2004) 6–15.
- <sup>72</sup> Ito, Nguyen, Kato, Wakayama, Kubo, Iseki, Tsuji. P-Glycoprotein (Abcb1) is involved in absorptive drug transport in skin. *Journal of Controlled Release* 131 (2008) 198–204.
- <sup>73</sup> Li, Kato, Sai, Imai and Tsuji. Multidrug Resistance-Associated Protein 1 Functions as an Efflux Pump of Xenobiotics in the Skin. *Pharmaceutical Research*, Vol. 22, No. 6, June 2005.
- <sup>74</sup> Ceckova-Novotna, Pavek, Staud. P-glycoprotein in the placenta: Expression, localization, regulation and function. *Reproductive Toxicology* 22 (2006) 400–410.
- <sup>75</sup> Szakacs, Varadi, Ozvegy-Laczka and Sarkadi. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox). *Drug Discovery Today* Vol 13, Numbers 9/10 May 2008.
- <sup>76</sup> Tatsuta, Naito, Ohhara, Sugawara and Tsuruo. Functional involvement of P-glycoprotein in blood-brain barrier. *J. Biol. Chem.* 267, 20383–20391
- <sup>77</sup> Kristian Linnet, Thomas Broeng Ejsing. A review on the impact of P-glycoprotein on the penetration of drugs into the brain. Focus on psychotropic drugs. *European Neuropsychopharmacology* (2008) 18, 157–169.
- <sup>78</sup> Kalvass, J.C., Graff, C.L., Pollack, G.M., 2004. Use of loperamide as a phenotypic probe of mdr1a status in CF-1 mice. *Pharm. Res.* 21, 1867–1870.
- <sup>79</sup> Grauer, M.T., Uhr, M., 2004. P-glycoprotein reduces the ability of amitriptyline metabolites to cross the blood–brain barrier in mice after a 10-day administration of amitriptyline. *J. Psychopharmacol.* 18, 66–74.
- <sup>80</sup> Litman, T., Druley, T.E., Stein, W.D., Bates, S.E., 2001. From MDR to MXR: new understanding of multidrug resistance systems, their properties and clinical significance. *Cell. Mol. Life Sci.* 58, 931–959.
- <sup>81</sup> Volk, Burkhardt, Potschka, Chen, Becker, Löscher. (2004). Neuronal expression of the drug efflux transporter P-glycoprotein in the rat hippocampus after limbic seizures. *Neuroscience* 123, 751–759.
- <sup>82</sup> Siddiqui et al., 2003. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug transporter gene ABCB1. *N. Engl. J. Med.* 348, 1442–1448.
- <sup>83</sup> Kim et al., S.Y., 2006. Lack of association between C3435T nucleotide MDR1 genetic polymorphism and multidrug-resistant epilepsy. *Seizure* 5, 344–347.
- <sup>84</sup> Sadeque, Wandel, He, Shah, Wood, 2000. Increased drug delivery to the brain by P-glycoprotein inhibition. *Clin. Pharmacol. Ther.* 68, 231–237.
- <sup>85</sup> Thuerauf, Fromm, 2006. The role of the transporter P-glycoprotein for disposition and effects of centrally acting drugs and for the pathogenesis of CNS diseases. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 256, 281–286.
- <sup>86</sup> Faber et al., Drug transport proteins in the liver. *Advanced Drug Delivery Reviews* 55 (2003) 107–124.
- <sup>87</sup> Kullak-Ublick, Jung, Ismail, Meier, Uptake of drugs into the liver, in: Matern et al., Hepatobiliary Transport: From Bench To Bedside, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 2001, pp. 37–43.

- 
- <sup>88</sup> Hediger et al. (2004). The ABCs of solute carriers: physiological, pathological and therapeutic implications of human membrane transport proteins: Introduction. *Pflugers Arch* 447 (5): 465–8
- <sup>89</sup> Smith, et al. 2000. MDR3 P-glycoprotein, a phosphatidylcholine translocase, transports several cytotoxic drugs and directly interacts with drugs as judged by interference with nucleotide trapping. *J. Biol. Chem.* 275, 23530–23539.
- <sup>90</sup> De Vree, et al. 1998. Mutations in the MDR3 gene cause progressive familial intrahepatic cholestasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 282–287.
- <sup>91</sup> Gerloff et al., 1998. The sister of P-glycoprotein represents the canalicular bile salt export pump of mammalian liver. *J. Biol. Chem.* 273, 10046–10050.
- <sup>92</sup> Strautnieks et al., 1998. A gene encoding a liver-specific ABC transporter is mutated in progressive familial intrahepatic cholestasis. *Nat. Genet.* 20, 233–238.
- <sup>93</sup> Lecureur et al., 2000. Cloning and expression of murine sister of P-glycoprotein reveals a more discriminating transporter than MDR1/P-glycoprotein. *Mol. Pharmacol.* 57, 24–35.
- <sup>94</sup> Akita et al., 2001. Characterization of bile acid transport mediated by multidrug resistance associated protein 2 and bile salt export pump. *Biochim. Biophys. Acta* 1511, 7–16.
- <sup>95</sup> Vos et al., Regulation of hepatic transport systems involved in bile secretion during liver regeneration in rats. *Hepatology* 29 (6) (1999) 1833–1839.
- <sup>96</sup> Marshall, Vickers: The mechanism of the elimination of phenolsulphonphthalein by kidney – a proof of secretion by the convoluted tubules. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1923; 34: 1–6.
- <sup>97</sup> Beyer et al. ‘Benemid’ *p* -(di-n-propylsulfamyl)-benzoic acid: its renal affinity and its elimination. *Am J Physiol* 1951; 166: 625-640.
- <sup>98</sup> Launay-Vache et al., Renal Tubular Drug Transporters. *Nephron Physiol* 2006;103:p97–p106.
- <sup>99</sup> Jacobs et al.: The use of probenecid as a chemoprotector against cisplatin nephrotoxicity. *Cancer* 1991; 67: 1518–1524.
- <sup>100</sup> [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)
- <sup>101</sup> Oostendorp et al., The Biological and clinical role of drug transporters at the intestinal barrier. *Cancer Treatment Reviews* 35 (2009) 137-147.
- <sup>102</sup> Zhang. Flavonoids Are Inhibitors of Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2)-Mediated Transport. *Mol Pharmacol* 65:1208-1216, 2004
- <sup>103</sup> [www.drugs.com](http://www.drugs.com)