

Expresión de Proteínas Relacionadas con Resistencia a Múltiples Drogas (MDR-Proteínas) en tumores sólidos

Expression of proteins related to multiple drugs (MDR-Proteins) in solid tumours

(1) A. Paredes-Lario, (2) J.L. Blanco-García, (3) M. Echenique-Elizondo

(1) Hospital Donostia. Departamento de Oncología. Donostia-San Sebastián. Euskadi. España UE.

(2) Hospital Donostia. Departamento de Radioterapia. Donostia-San Sebastián. Euskadi. España UE.

(3) Universidad del País Vasco. Departamento de Cirugía. Donostia-San Sebastián. Euskadi. España UE.

Resumen

El número de líneas de investigación sobre el cáncer es abrumador. Muchas de ellas se basan en la búsqueda de nuevos tratamientos. Otras, no menos importantes, intentan averiguar el porqué, a diferencia de bastantes tumores hematológicos como leucemias y linfomas, la mayoría de tumores sólidos, no pueden ser curados con quimioterapia.

Sin duda, las causas de que una célula tumoral sea resistente a la quimioterapia son muchas y de variada naturaleza. El motivo del presente trabajo es el de realizar una revisión y puesta al día de una de estas posibles causas, en concreto, el de la expresión de proteínas relacionadas con la resistencia a múltiples drogas.

Palabras clave: Quimioterapia, tumores, sólidos, RMD-proteínas.

Summary

Research lines on cancer are oppressing in number. Many of them are based on the search of new treatment approaches. Other, not less important, try to ascertain the reason, as opposed to enough heamathological neoplasm as leukemias and lymphomas, the majority of solid tumors, cannot be cured with chemotherapy. Without doubt, the causes that a tumoral cell can be resistant to chemotherapy are many and of various nature. The motive of the present work is that of carrying out a review and update of one of these possible causes, in concrete, that of the expresion of proteins related to the resistance to multiple drugs –MDR proteins–.

Key-Words: chemotherapy, Neoplasms, solid, MDR-proteins.

Laburpena

Minbiziari buruz lantzen ari diren ikerketa ildoen kopurua egundokoa da. Ikerketa ildo horietako askoren xedea tratamendu berriak bilatzea da. Baina garrantzi handiko ikerketa ildoak da, halaber, tumor solido gehienak kimioterapiaren bidez zergatik ezin senda daitezkeen azaltzeko helburua duena; alegia kimioterapiak zergatik ez dituen sendatzen tumor solidoak, leuzemia eta linfomen moduko tumor hematologiko asko bezala.

Zalantzarik gabe, arrazoi askoren eta askotarikoen ondorioa izan daiteke tumor zelula batek kimioterapiarekiko erresistentzia izatea. Eta honako lan honen xedea arrazoi posible horietako bat aztertzea da, hain zuzen ere: droga anizkunekiko erresistentzia duten proteinen adierazpena aztertzea.

Hitz giltzarriak: Kimioterapia, Tumorak, Solidoak, RMD-proteinak

Correspondencia:

Miguel Echenique-Elizondo.

Universidad del País Vasco. Facultad de Medicina.

Unidad Docente de Medicina de San Sebastián.

Paseo Dr. Beguiristain, 105.

Donostia-San Sebastián. Euskadi. España UE.

Tfno. 943 462 890

Fax 943 468 385

Correo electrónico: gepecelm@sc.ehu.es

INTRODUCCIÓN

El número de líneas de investigación sobre el cáncer es abrumador. Muchas de ellas se basan en la búsqueda de nuevos tratamientos. Otras, no menos importantes, intentan averiguar el porqué, a diferencia de bastantes tumores hematológicos como leucemias y linfomas, la mayoría de tumores sólidos, no pueden ser curados con quimioterapia.

Sin duda, las causas de que una célula tumoral sea resistente a la quimioterapia son muchas y de variada naturaleza. El motivo del presente trabajo es el de realizar una revisión y puesta al día de una de estas posibles causas, en concreto, el de la expresión de proteínas relacionadas con la resistencia a múltiples drogas.

RESISTENCIA A LA QUIMIOTERAPIA

La resistencia a la quimioterapia, independientemente de los mecanismos que la produzcan, puede ser innata o adquirida. La resistencia innata sería aquella que presenta un tumor sin contacto previo a los fármacos, mientras que la adquirida sería la que aparece tras el contacto con uno o varios de ellos (1°). Existen dos características tumorales, que parecen determinar la resistencia a la quimioterapia: la cinética de crecimiento, y en estrecha relación con esta, la aparición de mutaciones espontáneas.

CINETICA DE CRECIMIENTO

La mayoría de quimioterápicos actúan sobre las células en división, y cuanto menor sea la fracción de crecimiento, es decir, el porcentaje de células con actividad proliferativa, menor será el número de células presumiblemente sensibles al tratamiento. Por ello, las células que se encuentran fuera del ciclo celular, en la llamada fase G0, serán refractarias a la mayoría de quimioterápicos (2). La influencia de la cinética de crecimiento tumoral en la respuesta a la quimioterapia, fue demostrada por Skipper y cols. (3) hace varias décadas, con sus estudios de la leucemia de ratones L1210. La Leucemia L1210, tiene una fracción de crecimiento del 100% y su población celular aumenta de forma exponencial. Los cálculos efectuados por Skipper y cols. tras la administración de quimioterapia a los ratones leucémicos, demostraron que esta eliminaba células leucémicas también de forma exponencial y que la probabilidad de curación dependía del volumen tumoral inicial. Las favorables condiciones de estos estudios con ausencia de resistencia al tratamiento y una fracción de crecimiento del 100%, no suelen darse en los tumores sólidos. Los datos experimentales indican que los tumores sólidos crecen siguiendo un modelo gompertziano (2). Solo en las fases iniciales, cuando el volumen tumoral es pequeño, crecen exponencialmente como la leucemia L1210. Posteriormente, el crecimiento se enlentece también de forma exponencial, aumentando el número de células en fase G0. Una importante consecuencia de este tipo de creci-

miento es que, en el momento del diagnóstico, la mayoría de pacientes presentarán tumores con una baja fracción de crecimiento y, por tanto, con baja sensibilidad a la mayoría de los quimioterápicos (2).

MUTACIÓN ESPONTÁNEA

En 1979, Goldie y Coldman (4), aplicando conocimientos sobre las mutaciones espontáneas en algunas bacterias que las hacían resistentes a los virus bacteriófagos, formularon una hipótesis matemática sobre la aparición espontánea de resistencia a la quimioterapia antineoplásica. A través de cambios citogenéticos aleatorios, algunas células tumorales mutarían volviéndose resistentes a ciertos fármacos, sin contacto previo con ellos. Esta capacidad de resistencia se transmitiría a las células descendientes, de tal forma que la población celular de un tumor en crecimiento no sería homogénea, coexistiendo clones celulares sensibles y resistentes al tratamiento (4,5). La hipótesis de Goldie y Coldman establece que la tasa de mutación depende de la inestabilidad genética de cada tumor y que tal evento suele iniciarse antes de que sea clínicamente detectable. El número de células resistentes en un tumor en el momento del diagnóstico, se relacionará directamente con su tamaño y su tasa intrínseca de mutación (4,5).

Muchos tumores al ser tratados con quimioterapia, siguen aparentemente las reglas enunciadas por Skipper y Goldie y Coldman (2,4,5).

CAUSAS DE LA RESISTENCIA A LA QUIMIOTERAPIA

No existe una definición claramente establecida sobre lo que se considera un tumor "resistente" a nivel clínico. Algunos autores (6) consideran apropiado emplear criterios de valoración de respuesta a la quimioterapia, como los de la OMS (7), considerando sensibles a los tumores con respuesta completa y resistentes o parcialmente resistentes a los demás (8,9). Ante esta situación, podemos decir que la mayoría de los pacientes con cáncer de pulmón, como la mayoría de los pacientes con tumores sólidos, son resistentes a la actual quimioterapia. Dado que, hasta el momento, no se ha identificado ningún mecanismo que por sí solo confiera resistencia a todos los fármacos conocidos (1,10), es muy probable, que esta resistencia sea de causa multifactorial.

Clasificar las múltiples causas que pueden originar resistencia a la quimioterapia es difícil (1,10,11). El objetivo principal del tratamiento quimioterápico es conseguir la muerte de la célula tumoral. Para ello es necesario conseguir que la mayor cantidad de fármaco activo posible, llegue a nivel de su diana molecular, en el interior de la célula. Cualquier circunstancia que se interponga o dificulte este objetivo puede ser causa de resistencia. Tomando como base lo publicado por Lehnert en 1996 (11), podríamos clasificar a los factores causantes de resistencia en extracelulares e intracelulares. Ambos grupos no son completamente independientes y pueden influen-

ciarse entre sí. Tal es el caso del aumento de expresión de algunas proteínas relacionadas con la resistencia a drogas, que se produce en situaciones de hipoxia por mala vascularización tumoral (12). La mayor parte de la información sobre mecanismos de resistencia procede de estudios *in vitro* (1,10,12,13). Aunque cada vez se publican más estudios a nivel clínico, estos siguen siendo escasos en comparación a los puramente experimentales, por lo que la verdadera repercusión clínica de estos mecanismos está por determinar (11,13).

FACTORES EXTRACELULARES

Prácticamente todos los citostáticos que se han visto afectados *in vitro* por algún mecanismo de resistencia, entran en la célula por difusión pasiva (14,15). Por ello, cuanto mayor sea la concentración extracelular del fármaco, mayor será la cantidad que pasa al interior. Entre los factores que pueden alterar la concentración extracelular de un fármaco se encuentran la administración de una dosis insuficiente, la inactivación metabólica, la dificultad en acceder al tumor por una vascularización tumoral alterada, las barreras fisiológicas, como las existentes en el sistema nervioso central y los testes (zonas anatómicas conocidas como "santuarios" para la quimioterapia), y también la presencia en el tejido intersticial tumoral de sustancias como el colágeno que dificultaran la difusión del fármaco (11).

FACTORES INTRACELULARES

Con independencia de la cinética de crecimiento, ya sea por mutación espontánea, o por exposición a los fármacos, la célula tumoral va a desarrollar una serie de mecanismos de defensa frente a la quimioterapia. Estos mecanismos de resistencia intracelulares son, posiblemente, la causa fundamental del fracaso al tratamiento (2). Son múltiples y variados (16,17) y, en general, no se trata de hechos aislados e independientes entre sí, sino que han de ser contemplados como parte integrante de procesos mucho más complejos, como puede ser el fenómeno de la muerte celular programada o apoptosis (18). Podríamos dividir estos mecanismos en tres grupos: Los que disminuyen la concentración del fármaco a nivel de su diana molecular, las propias alteraciones de la diana molecular y por último aquellos que una vez conseguido el efecto del fármaco sobre su diana, evitan la muerte celular.

Disminución de la concentración del fármaco a nivel de su diana molecular

La reducción en la acumulación intracelular de los fármacos, es uno de los mecanismos más frecuentes de resistencia a los antineoplásicos. Esto puede producirse por su expulsión a través de la membrana celular, por secuestro en vesículas citoplasmáticas, por variaciones en el transporte entre núcleo

y citoplasma o por alteración en el metabolismo intracelular del fármaco (11,19).

Expulsión a través de la membrana celular

La expulsión del fármaco fuera de la célula es probablemente el mecanismo de resistencia más estudiado y, fundamentalmente, está relacionado con la actuación de determinadas proteínas transportadoras (17,19). Hasta la actualidad se han descubierto tres proteínas que actúan de esta manera: Pgp (P-glycoprotein), Mrp (Multidrug resistance-associated protein) y Bcrp (Breast cancer resistance protein).

Secuestro en vesículas citoplasmáticas y/o por variaciones en el transporte entre núcleo y citoplasma

En líneas celulares resistentes a doxorrubicina y cisplatino (6), han sido detectados cambios en la distribución intracelular de estos fármacos, por alteraciones en el transporte nuclear y por secuestro intracelular en pseudo-vesículas citoplasmáticas. Los mecanismos causantes de esta distribución no son conocidos. Es posible que otra MDR-proteína llamada Lrp (Lung resistance protein) pudiera estar implicada. No se descarta tampoco, que otras proteínas como Pgp o Mrp, puedan también jugar un papel en el secuestro vesicular de drogas (11).

Alteración en el metabolismo intracelular del fármaco

Una vez en el interior de la célula las drogas pueden ser inactivadas por oxidación y/o conjugación con glutatión (GSH). Familias de isoenzimas como las Glutathione S-transferasas (GSTs) conjugan el glutatión con varios xenobióticos o fármacos jugando un importante papel en la detoxificación. La sobreexpresión de GSTs y el aumento del contenido celular de GSH se han asociado con la resistencia a un agente muy importante en el tratamiento del cáncer de pulmón, el cisplatino (20), y también con antraciclinas y alquilantes como el melfalán, la ciclofosfamida, el thiotepa o la carmustina (11). La conjugación no es suficiente para que la célula expulse los fármacos, ya que el conjugado (GS-X) es más hidrófilo y no puede salir por difusión pasiva. Para ello el GS-X necesita a las llamadas bombas de GS-X ("GS-X pumps"). Algunas proteínas transportadoras como la Mrp pueden actuar como bombas de GS-X (21). Otra de estas proteínas, la Pgp, parece tener elementos reguladores comunes con la Glutathione S-transferasa-pi (22), estando descrito un aumento de la expresión de ambas en tumores resistentes y en tumores con baja actividad proliferativa (23).

Alteraciones de la diana molecular

Las alteraciones de la topoisomerasa II son un ejemplo de cómo una variación en la diana molecular de los fármacos, puede ser causante de resistencia a múltiples drogas. La resistencia ligada a estas enzimas ha sido ampliamente estudiada a nivel experimental (1,19,24). Algunos autores la denominan resistencia "atípica" a múltiples drogas (25) ya que consideran "típica" o "clásica" la relacionada con la pro-

teína Pgp. Las topoisomerasas son enzimas muy importantes en el metabolismo del ADN. Entre otras funciones, rompen de forma controlada y posteriormente vuelven a unir las cadenas de nucleótidos (24). Existen dos tipos de topoisomerasas, la I y la II. La I rompe una sola cadena, mientras la II rompe ambas cadenas a la vez. Las roturas del ADN permiten el paso de una cadena a través de la otra, lo cual es imprescindible para la formación de la doble hélice. Las alteraciones cuantitativas o cualitativas del enzima pueden alterar la sensibilidad de esta a sus inhibidores. Existen dos isoformas de la topoisomerasa II llamadas α y β (26). Estas isoformas presentan una regulación diferente y sus propiedades y probablemente sus funciones también lo son. Los fármacos inhibidores de las topoisomerasas se unen de forma fija a ellas y al ADN, estabilizando las roturas de este. Al impedirse el restablecimiento de la integridad del ADN se inicia el proceso de la muerte celular (19,27). Son inhibidores de la topoisomerasa I fármacos como el topotecán y el irinotecán o CPT11. Son inhibidores de la topoisomerasa II las epipodofilotoxinas como el VP16 o etopósido y el VM26 o tenipósido, las antraciclinas y otras drogas como el mitoxantrone y la dactinomicina. Varios de estos fármacos se emplean en el tratamiento del cáncer de pulmón (8,9).

Se ha publicado, que los niveles de topoisomerasa II α en carcinomas escamosos, adenocarcinomas y carcinomas de célula grande de pulmón, son menores que en los carcinomas de célula pequeña, lo que podría contribuir a su diferente sensibilidad a la quimioterapia (23). Las alteraciones de la topoisomerasa II α pueden jugar un papel en la resistencia a la quimioterapia del cáncer de pulmón (6,25), pero los estudios clínicos, en general, no encuentran relación con la respuesta a la quimioterapia ni con otras variables clínicas (22,25,28,29). Sin embargo, algunos estudios han detectado una peor supervivencia en los pacientes que presentan altos niveles de topoisomerasa II α (28,29).

FACTORES QUE EVITAN LA MUERTE CELULAR

La célula tumoral puede defenderse de los efectos de la quimioterapia, incluso después de que el medicamento halla alcanzado su objetivo y causado un daño importante (11). Dos alteraciones celulares destacan a este nivel, un aumento en la capacidad de reparación del ADN y, lo que parece más importante, el fallo en la muerte celular programada o apoptosis.

Aumento en la capacidad de reparación del ADN

Muchos citotóxicos tienen en común la alteración de la estructura del ADN (alquilantes, inhibidores de la topoisomerasa, antimetabolitos) (19). El aumento en la capacidad de reparación de este, es otro mecanismo causante de resistencia múltiple. Anormalidades en enzimas como la O6-alquilguanina-alquiltransferasa (ATasa) o alteraciones en los genes que reparan la escisión del ADN, parecen estar entre sus causas

(11,19). Recientemente, se ha detectado que una elevada expresión de gen ERCC1 ("Excisión Repair Cross-Complementing 1") aumenta la resistencia al cisplatino en el cáncer de pulmón (30).

Fallo de la muerte celular programada o apoptosis

Es uno de los factores a los que se le da actualmente más importancia como causa de resistencia a múltiples drogas. Los tejidos normales, a diferencia de los neoplásicos, no crean resistencia a la quimioterapia (2). Esto es evidente a la simple observación clínica. Los tejidos normales más renovables, como la mucosa gastrointestinal y la médula ósea, aun siendo los que más sufren los efectos de las drogas antineoplásicas, nunca se vuelven resistentes, y a pesar del uso reiterado del fármaco continúan sufriendo sus efectos tóxicos (2). Hoy se piensa que esto se debe a que los tejidos normales tienen intacta y en buen funcionamiento toda la maquinaria genética que controla los llamados "puntos de chequeo" del ciclo celular y la muerte celular programada o apoptosis. Estos controles, no permiten que células con ADN dañado entren en división, de tal manera que detienen el ciclo celular hasta que se repare el ADN o bien encaminan a la célula hacia la muerte programada o apoptosis. No se conoce el motivo por el cual una célula con daño en su ADN opta por iniciar la apoptosis o por parar el ciclo celular y reparar dicho daño (18). La alteración de estos sistemas de control del crecimiento celular puede ser una de las causas principales de la resistencia a la quimioterapia (2). De hecho, se han iniciado estudios con sustancias que inducen apoptosis (31). El mal funcionamiento de los mecanismos de control del ciclo celular y de la apoptosis, provoca que una célula con daño no reparado en su ADN, se reproduzca continuamente, en lugar de morir o detener su duplicación (2,18).

Los nuevos conocimientos sobre el control del ciclo celular modifican la visión clásica de que la sensibilidad a las drogas antineoplásicas dependía, de forma casi exclusiva, de la interacción entre el fármaco y su diana celular. En muchas ocasiones dicha interacción es solo el estímulo que inicia una cascada de acontecimientos que eventualmente pueden terminar con la vida de la célula (2). Un elemento importante en todo lo descrito anteriormente es la proteína p53. La p53 es una proteína activadora de la transcripción, con efecto tumoral supresor, que actúa deteniendo el ciclo celular en la fase G1 o G2, cuando la célula es expuesta a fármacos que dañan el ADN (2,32). Por otro lado, también es una potente inductora de la apoptosis (32). Las mutaciones en el gen que codifica la p53 son frecuentes en los tumores humanos (2). Las alteraciones en la regulación de la apoptosis y en los puntos de chequeo del ciclo celular, por mutaciones de la p53, pueden ser causa de resistencia a la quimioterapia (2,33). Una p53 alterada se ha relacionado con resistencia a una gran variedad de quimioterápicos, pero, por el contrario, también con una mayor sensibilidad a otros (2). Las alteraciones de la p53 se han relacionado con la respuesta a la quimioterapia (34,35,36), con la resistencia al cisplatino, y con las metástasis ganglionares. Por el contrario, otros estudios no han

encontrado significación pronóstica (37,38), ni influencia en la falta de respuesta al cisplatino (39).

La p53, en su estado normal, parece ejercer un efecto supresor sobre los genes que codifican dos proteínas relacionadas con la resistencia a la quimioterapia, Mrp y Pgp (34,40). La Pgp, con independencia de su papel de bomba de membrana (Error! Reference source not found.), se ha relacionado con la inhibición de la apoptosis por vías diferentes a la p53 (41).

Además de la p53, existen otros elementos que actuando también sobre la apoptosis, pueden tener un papel en la resistencia a la quimioterapia (2). Entre ellos tenemos: la activación de genes supresores de la apoptosis como el Bcl-2, cuya inhibición disminuye la resistencia a drogas antineoplásicas en cultivos celulares de leucemia y linfomas; la inhibición de las protein-quinasas activadas por el stress (SAPK o "Stress-Activated Protein Kinase"), las cuales facilitan la apoptosis inducida por quimioterapia; o la inhibición de las caspasas, que activadas por muchos quimioterápicos inician la apoptosis (42).

EL FENOMENO DE LA RESISTENCIA A MULTIPLES DROGAS

La práctica clínica diaria pone en evidencia que la mayoría de tumores sólidos, de forma innata o adquirida, terminan siendo resistentes a múltiples quimioterápicos, con estructura y mecanismos de acción muy diferentes. Este resultado final, es similar a un fenómeno descrito experimentalmente y que recibe el nombre de resistencia a múltiples drogas o MDR ("Multidrug Resistance"). En su descripción inicial, este fenómeno se relacionó con una proteína transportadora de la membrana celular llamada Pgp, pero posteriormente se descubrieron otros mecanismos causantes del fenotipo celular multirresistente, como los ligados a otras proteínas transportadoras, a las alteraciones de enzimas como las topoisomerasas, o a sistemas detoxificantes como el del glutatión (GSH) (10,11,13,15,16,17,43.).

A A MULTIPLES DROGAS (MDR-PROTEINAS)

La historia de las proteínas causantes de resistencia a múltiples drogas o MDR-proteínas, se inicia en 1973, con el descubrimiento por Keld Dano (44), de la expulsión activa de daunomicina en células tumorales resistentes. Estas células habían sido expuestas únicamente a esta droga, pero presentaban resistencia cruzada con la doxorubicina y los alcaloides de la vinca. Posteriores estudios describieron el fenotipo celular resistente a múltiples drogas o fenotipo MDR, que consistía en que células seleccionadas para resistencia mediante la exposición a un único agente antineoplásico, desarrollaban resistencia a una amplia variedad de compuestos estructuralmente diferentes. En 1976, Juliano y Ling descubrieron una

glucoproteína en la membrana plasmática de células multi-resistentes, que por sus características, parecía una buena candidata para ser una bomba de expulsión (45). Pero fue en 1983, cuando Victor Ling y otros investigadores, dieron a conocer que el aumento de expresión de esa proteína de 170 kD, llamada P-glycoprotein (Pgp) estaba implicada en la resistencia a múltiples drogas en líneas celulares de mamíferos (46).

Las drogas afectadas por las MDR-proteínas, aunque presentan diferencias en su estructura y mecanismo de acción, tienen características comunes como ser compuestos de origen natural, lipofílicos, y con peso molecular entre 300 y 900 D que entran en la célula por difusión pasiva. Estas proteínas se encuentran presentes en numerosos tejidos normales del organismo humano y en los tumores que de ellos se derivan. El hecho de que muchos de estos tejidos tengan funciones secretoras-excretoras (riñón, hígado, epitelio digestivo y respiratorio), hace pensar que las MDR-proteínas desempeñen funciones fisiológicas de protección ante toxinas exógenas (47,48,49,50). Esto último podría explicar el aumento de expresión de algunas de estas proteínas detectado en fumadores (51).

A nivel experimental, las MDR-proteínas producen resistencia fundamentalmente de tres maneras:

Pgp, Mrp y Bcrp se localizan en la membrana celular y pertenecen a una familia de transportadores conocidos como transportadores ABC (ATP-binding cassette). Los miembros de ésta familia están implicados en el transporte activo de numerosas moléculas a través de la membrana celular. Pgp, Mrp y Bcrp actúan como "bombas de expulsión", disminuyendo la acumulación intracelular de varias sustancias, incluidos numerosos citostáticos (13,43).

Fundamentalmente la Lrp, pero también la Mrp y la Pgp, se les asocia con la alteración de la distribución intracelular de algunas drogas (52,53).

La Pgp parece influir de forma directa sobre la apoptosis (41,54).

Pgp (P-GLYCOPROTEIN)

La resistencia ligada a Pgp, por ser esta la primera MDR-proteína descubierta, es el mecanismo de resistencia a múltiples drogas más extensamente estudiado. Por ello, se la conoce también como MDR clásica o típica (25). Al gen que codifica a Pgp se le llama MDR1, y se localiza en el cromosoma 7. Existe en humanos otro gen homólogo conocido como MDR3 (55). Recientemente, se ha descubierto que el producto de este gen, que es una proteína idéntica en un 77% a Pgp, es esencial para la excreción de fosfatidilcolina en la bilis, y que su ausencia produce la colostasis intrahepática familiar progresiva tipo 3 (56). Dicha proteína no se encuentra en el tejido pulmonar y se desconoce si contribuye o no al fenómeno de la resistencia a múltiples drogas (57).

Pgp es una glucoproteína de membrana con un peso molecular de 170 kD, por este motivo se la llama también prote-

ina P-170 (15). Pgp actúa como una bomba de expulsión ATP-dependiente, reduciendo la acumulación intracelular de varias sustancias. Se expresa normalmente en el colon, intestino delgado, suprarrenales, riñón e hígado, y se piensa que su función pueda ser la de aumentar la excreción y limitar la absorción de elementos nocivos para el organismo. Se han detectado altos niveles de Pgp en el endotelio capilar de cerebro y testes, también en la barrera placentaria (17,48), en músculo, pulmón y páncreas (58).

La expresión de Pgp determina un fenotipo celular resistente a varios productos naturales como antraciclinas, alcaloides de la vinca, epipodofilotoxinas y taxanos entre otros. También sirven de sustrato a Pgp otras drogas o compuestos exógenos como los bloqueadores de los canales del calcio (verapamilo), digoxina, opiáceos, hidrocarburos aromáticos, complejos sintéticos como el Tc99-sestamibi, rhodamina 123 o antiviricos como los inhibidores de la proteasa (15,17).

Se ha detectado Pgp en varias neoplasias hematológicas y sólidas (59), pudiendo aparecer de "novo", o ser inducida por el tratamiento con quimioterapia, hormonoterapia (60) o radioterapia (61).

Mrp (MULTIDRUG RESISTANCE-ASSOCIATED PROTEIN)

Mrp es en realidad una familia de varios transportadores celulares (21). Las Mrp se localizan en la membrana plasmática, formando parte, como la Pgp, de los transportadores ABC, pero también en el retículo endoplasmático, de lo que se infiere que puedan actuar tanto en la expulsión de drogas fuera de la célula como en el secuestro intracelular de estas en vesículas citoplasmáticas (17). Las Mrp son capaces de transportar aniones orgánicos y drogas neutras, conjugadas o no, con sustancias como el glutatión, glucoronatos y sulfatos. Se cree que algunos sistemas de expulsión de conjugados de glutatión ("GS-X pumps"), pueden ser proteínas de la familia Mrp (66). Tal es el caso de los GS-X pumps que expulsan methotrexate (anión orgánico), los cuales se han relacionado con Mrp1, Mrp2 y Mrp3 (21,62). Por este mismo sistema, también podrían estar relacionadas, con la expulsión de toxinas naturales, sales de metales pesados como el arsénico y con la resistencia a pequeñas moléculas como el cisplatino (8,9).

Mrp1: Ha sido la más estudiada del grupo. Es una proteína de 190 kD codificada por el gen MRP1 que se localiza en el cromosoma 16. Fue descubierta por Cole y cols. a partir de una línea celular de cáncer de pulmón multirresistente (H69AR) que no expresaba Pgp (47). La mayoría de trabajos que hacen referencia a Mrp sin especificar su tipo, se refieren a Mrp1. Su espectro de resistencia es similar pero no idéntico al de Pgp, y no puede ser revertido por la ciclosporina A (50,63). El transporte de taxanos por Mrp1 es mucho menor que por Pgp, y su afinidad para aniones orgánicos mucho mayor (21). Aunque algunos autores niegan su relación con la resistencia al cisplatino (21), otros si la relacionan con la falta de respuesta a esta droga (64).

La distribución de Mrp1 en tejidos normales es bastante similar a la de Pgp (58), pero Mrp1 se expresa de forma más importante en el tejido pulmonar normal y al contrario que Pgp se expresa poco en riñón (47,65) y nada en hígado (221). También se encuentra en tiroides y próstata (58). Se han detectado altos niveles de Mrp1 en células mononucleares periféricas, macrófagos alveolares (57) y linfocitos infiltrantes de tumores (65). Mrp1 es el mayor transportador de leukotrieno C4 (66). Los leukotrienos, son unos potentes mediadores proinflamatorios que aparecen en la fase tardía de la reactividad asmática (67). Esto y su detección junto con la Pgp en el interior de las células dendríticas hacen suponer que ambas juegan un papel importante en la respuesta inmune (23).

La localización celular de Mrp1 difiere de la de Pgp, mientras que esta se localiza en la membrana apical del epitelio, Mrp1 lo hace en la membrana baso-lateral, por lo que se supone que expulsa sus sustratos a un compartimento diferente a Pgp, el intersticio. Esto puede significar un factor de protección importante, por ejemplo, para las células germinales en los túbulos testiculares, o para prevenir la entrada de tóxicos en el líquido cefalorraquídeo a través de los plexos coroides (21).

Mrp2: Es la responsable principal del transporte de bilirrubina hacia los canalículos biliares, su defecto produce el llamado síndrome de Dubin-Johnson. En cultivos celulares su espectro de resistencia es similar a Mrp1, pero con una importante diferencia, Mrp2 induce resistencia al cisplatino al eliminarlo de la célula conjugado con glutatión (GSH), cosa nunca vista en células que expresan Mrp1. Junto a las clásicas drogas implicadas en la MDR, también se ha detectado resistencia a Irinotecán y mitoxantrone (21). Al igual que para Mrp1, la presencia de glutatión parece necesaria para la actuación de Mrp2, ya sea mediante conjugación con este, como es el caso para el cisplatino o bien de forma no conjugada, como es el caso de antraciclinas y alcaloides de la vinca (21).

Mrp3: La función fisiológica de Mrp3 no se conoce, se expresa en la membrana basolateral de los hepatocitos y también en la corteza suprarrenal (21). Al igual que Mrp1 parece conferir una fuerte resistencia a la doxorrubicina, en líneas celulares de cáncer de pulmón, y en menor grado también se relaciona con resistencia a vincristina, etopósido, cisplatino (64,68) y con la exposición corta al methotrexate (21). Se cree que Mrp3 y Mrp1, (y en cambio no Mrp2), pueden ser causa de resistencia a múltiples drogas en el cáncer de pulmón, y que particularmente Mrp3 contribuye a la resistencia intrínseca del cáncer de pulmón no célula pequeña a la quimioterapia (68). Se ha detectado expresión significativa de Mrp3 en el tejido pulmonar normal y tumoral de pacientes tratados con cisplatino. También se ha encontrado un rápido aumento de expresión en células mononucleares periféricas, en las primeras 24 horas tras la administración de carboplatino, en pacientes con cáncer de pulmón sin tratamiento quimioterápico previo (69).

Mrp4: Su aumento se asocia a resistencia a compuestos antiviricos contra el HIV (PMEA o AZTMP), por esta resistencia a

los análogos de los nucleótidos se piensa que pueda jugar un papel en la resistencia a antineoplásicos como la 6-mercaptopurina o la tioguanina (21). No existen pruebas que confirmen la sospecha de la participación de estas proteínas en la resistencia a la quimioterapia de muchos tumores (64). Su función fisiológica es desconocida (21).

Mrp5: Esta proteína, transporta conjugados de glutatión y parece, al igual que Mrp4, ser una bomba de expulsión de nucleótidos. Se desconoce su función fisiológica (21).

Mrp6: Su fisiología y papel en resistencia son desconocidos. Se detectan altos niveles en hígado y riñón y parece que suele expresarse junto a Mrp1 (21).

Lrp (LUNG RESISTANCE-RELATED PROTEIN)

Lrp es una proteína de 110 kilodaltons descubierta a partir de una línea celular de cáncer de pulmón con MDR no ligada a Pgp (70). El gen que la codifica se localiza en el cromosoma 16, cercano al de Mrp (71).

Lrp aparece como un evento precoz en la selección de células multirresistentes. En líneas celulares seleccionadas para resistencia a numerosas drogas se demostró expresión de Lrp cuando los niveles de resistencia eran bajos. La expresión de Lrp declinaba con niveles mayores de resistencia, a la misma vez que aumentaba la expresión de Pgp (70).

Se la conoce también como MVP (Major Vault Protein), porque constituye el componente proteico mayor de unas organelas celulares llamadas vaults (53). Los vaults, de descripción relativamente reciente (72), son ribonucleoproteínas con una compleja estructura en forma de barril. Los vaults tienen una composición y estructura casi idénticas en especies filogenéticamente tan alejadas como amebas y humanos, lo que parece indicar que su función es esencial para las células eucariotas. La mayoría de los vaults se encuentran en el citoplasma, probablemente en asociación con vesículas citoplasmáticas, y una pequeña parte en la membrana nuclear, concretamente a nivel de los complejos porosos nucleares o NPC ("Nuclear Pore Complex"). Existe evidencia de que los vaults constituyen en realidad las unidades transportadoras de los NPC, estando implicados en el transporte bidireccional, entre núcleo y citoplasma, de una gran variedad de sustratos (73). No se conoce exactamente como Lrp puede afectar a la quimioterapia, aunque se especula sobre una probable regulación del transporte de fármacos entre núcleo y citoplasma y entre este y el interior de vesículas citoplasmáticas (70). La transferencia del gen de Lrp solo, no fue suficiente para conferir resistencia a drogas (53), es posible que para esto se necesite el vault completo.

Se ha detectado Lrp en riñón, suprarrenal, corazón, músculo, tiroides, próstata, médula ósea y testes (58). Lrp se expresa más intensamente en células bronquiales, queratinocitos y macrófagos que Pgp y menos en los canalículos biliares. A nivel pulmonar se expresa de forma más intensa en los macrófagos alveolares que en las células epiteliales (74). En

tejidos tumorales su expresión parece guardar una relación inversa con la quimiosensibilidad de estos (75).

La expresión de Lrp se relaciona in vitro con un espectro de resistencia múltiple, que incluye drogas de las consideradas "clásicas" en MDR, y otras que no, como el melfalán y las sales de platino (33,76). La expresión de Lrp parece aumentar en situaciones de hipoxia (12). Se ha demostrado de forma clara la implicación de Lrp en la resistencia a adriamicina, vincristina, Vp16 y taxol, y en el transporte de adriamicina entre núcleo y citoplasma, en la línea celular de carcinoma de colon humano SW-620 (52). En líneas celulares no seleccionadas de cáncer de pulmón no célula pequeña, se ha encontrado una correlación entre Lrp y la resistencia a cisplatino, y por mecanismos diferentes a otras formas de resistencia a esta droga, como pueden ser los sistemas de expulsión de conjugados con el glutatión (GS-X pumps).

Brcp (BREAST CANCER RESISTANCE PROTEIN)

Brcp es la MDR-proteína de descubrimiento más reciente. Brcp fue aislada en líneas celulares multirresistentes seleccionadas por exposición al mitoxantrone. También se le llama MXP, ABCP o ABCG2 (77,78,79). Brcp es un "medio-transportador" ABC, que necesita estar en forma de dímero o multímero para trasladar sustratos de forma eficiente a través de la membrana celular. Su expresión confiere elevada resistencia a las antraciclinas (mitoxantrone, daunorrubicina, doxorubicina) y a los inhibidores de la topoisomerasa I, de hecho es un eficiente transportador de topotecan (81), pero no parece afectar a los taxanos, alcaloides de la vinca ni cisplatino (17,81). Brcp presenta una baja expresión en el tejido pulmonar, localizándose fundamentalmente en la capa epitelial, glándulas seromucinosas y en el endotelio capilar (57). Se ha detectado expresión de Brcp en leucemias agudas (82), y en algunos tumores sólidos como el cáncer de pulmón (83). Se dispone de muy pocos datos sobre el significado clínico de esta nueva MDR-proteína. Por inmunohistoquímica, Brcp está presente en vasos y en el epitelio mamario normal pero no en las células tumorales de pacientes con neoplasia de mama, y sin diferencias de expresión entre las pacientes expuestas o no a las antraciclinas. Por métodos más sensibles (Rt-pcr), la expresión fue muy variable y sin relación con la respuesta ni la supervivencia (84).

TECNICAS DE ESTUDIO DE MDR-PROTEINAS

Determinación de expresión

El método ideal para medir los niveles de MDR-proteínas, debería ser sensible, reproducible, aplicable a pequeñas muestras titulares, y capaz de distinguir entre células tumorales y células no malignas que infiltren el tumor (85,86). Desafortunadamente ninguno de los métodos actualmente

disponibles cumple al completo estos requisitos. La variedad de técnicas, junto con la falta de uniformidad entre los autores en la forma de medir y cuantificar la expresión de MDR-proteínas, hace muy difícil la comparación entre diferentes estudios (87).

Los diferentes métodos para estudiar las MDR-proteínas van desde la búsqueda del gen que las codifica, hasta la detección de la propia proteína (85,87,88). De unos a otros, existen importantes variaciones de sensibilidad y especificidad. Entre los que detectan el gen, se incluyen técnicas de RNA mensajero (RNAm) como la RT-PCR ("reverse transcriptase polymerase chain reaction"), "northern blot", "slot blot", "RNAse protection assay e hibridación in situ. Entre los que detectan la proteína, se encuentran la inmunohistoquímica, la técnica de "western blotting" o la citometría de flujo. Esta última es de utilidad y más fácil empleo en neoplasias hematológicas, pero precisa para ello contar con un anticuerpo que se una a un epítipo extracelular de la MDR-proteína. Con citometría de flujo se ha podido determinar la expresión de Pgp en diferentes subtipos celulares (89). En general, las más utilizadas en tumores sólidos son la RT-PCR y la inmunohistoquímica.

RT-PCR: Es una prueba cuantitativa muy sensible (90), pero puede dar falsos positivos al amplificar RNAm de células normales que expresen el gen, de modo que solo pueden considerarse muy fiables los resultados negativos (87). Este hecho puede dificultar la interpretación de los resultados obtenidos en algunos estudios, como por ejemplo en los de cáncer de pulmón, ya que se ha detectado expresión de MDR-proteínas en los tejidos normales adyacentes al tumor (74), y también en células no neoplásicas que lo infiltran (91).

Inmunohistoquímica: Es menos sensible que la RT-PCR, pero más fácilmente aplicable a nivel clínico, por lo que se considera el método de elección en tumores sólidos (92). Se trata de una técnica relativamente sencilla, que en teoría puede detectar estas proteínas incluso en una sola célula. Esto permite trabajar con pequeñas muestras titulares como biopsias broncoscópicas. Además, tiene la capacidad de diferenciar entre células normales y tumorales (15,87,88). La especificidad del anticuerpo utilizado, y el material de conservación de las muestras pueden influenciar en la validez del resultado. Por ejemplo, el anticuerpo C-219, usado para detectar Pgp, reacciona también con el producto del gen Mdr2. Este gen es muy parecido secuencialmente al Mdr1, pero de función desconocida (93), esto puede alterar los resultados y explicar la tinción de los linfocitos con este anticuerpo. Aunque se están mejorando las técnicas para muestras conservadas en parafina la reactividad es menor que en el tejido congelado (23,57). Otros inconvenientes de la inmunohistoquímica son los diferentes criterios para considerar que una muestra es positiva y la importante variación interobservador. Un estudio que analizó este último aspecto, detectó discordancias en el 26% de los casos evaluados (94).

En caso de ser posible, parece recomendable el uso de los dos métodos. RT-PCR por sensibilidad y cuantificación, e inmunohistoquímica para localización (92). Pero el tamaño

de la muestra o su modo de conservación, pueden dificultar o impedir la realización de más de una técnica. Algunos autores han encontrado resultados similares, al emplear estas dos técnicas simultáneamente en pacientes con cáncer de pulmón (95).

Determinación de función

La detección de una proteína o de su gen no implica necesariamente funcionalidad, pues fenómenos de fosforilación o mutaciones pueden alterar su actividad. A pesar de ello, gran número de estudios básicos soportan la impresión de que el aumento en la cantidad de una proteína implica un aumento en su función (23).

La determinación de la funcionalidad de Pgp se considera un test muy importante en las neoplasias hematológicas. Para ello se han empleado pruebas de fluorescencia con buenos sustratos como la Rhodamina 123, o la calceína, combinados con moduladores específicos. En concreto, la captación de la rhodamina 123 de los linfocitos CD56+ circulantes, se utiliza para valorar las modificaciones funcionales de la Pgp en los pacientes incluidos en estudios de modulación (96). Estos test de funcionalidad se han relacionado con resistencia a la quimioterapia y otros factores pronósticos en este tipo de neoplasias (33).

El hecho de que algunas sustancias radiofarmacéuticas de carácter lipofílico, como el tecnecio 99m-tetrofosmin (Tc-TF) o el tecnecio 99m-sestamibi (99mTc-MIBI), sean sustrato de algunas MDR-proteínas (97), ha permitido efectuar estudios de imagen sobre su funcionalidad in vivo en tumores sólidos. El que esto pueda ser útil para planificar el tratamiento de los pacientes con cáncer esta por demostrar. Se ha descrito una buena correlación entre expresión de Pgp y acumulación intratumoral de estas sustancias en cáncer de mama (98). En cambio esta correlación no parece encontrarse en osteosarcomas (99). Con respecto al cáncer de pulmón varios estudios han detectado una relación significativa entre expresión de MDR-proteínas y acumulación y/o disminución del aclaramiento intratumoral de estas sustancias. Se han publicado resultados positivos, fundamentalmente para Pgp, con una relación inversa entre su expresión y los diferentes parámetros de captación tumoral de los compuestos de tecnecio (100,101,102). Estudios de expresión conjunta de varias MDR-proteínas han dado resultados discrepantes. Mientras algunos, han encontrado que una captación positiva de 99mTc-MIBI se corresponde con una buena respuesta a la quimioterapia y una baja expresión de Pgp y Mrp1, en pacientes con carcinomas de célula pequeña (101,103,104). Otros, confirman la relación con la expresión de Pgp, pero no con la de Mrp1 (102). Por el contrario, hay autores que no detectan relación, entre la respuesta a la quimioterapia y la captación de Tc-TF, en ningún tipo de cáncer de pulmón (105), ni tampoco entre captación de 99mTc-MIBI y expresión de Pgp y Mrp1, en cáncer de pulmón no célula pequeña (106). En lo que si parece haber acuerdo, es en la falta de relación con la expresión de Lrp (102,107).

INHIBICION O MODULACION CLINICA DE LAS MDR-PROTEINAS

Las esperanzas concebidas tras el descubrimiento de la Pgp, recibieron un gran empuje al publicar Tsuruo y cols., en 1981, que el verapamilo podía revertir el fenotipo de resistencia a múltiples drogas (Error! Reference source not found.). Poco después, se descubrió que varios compuestos de uso clínico eran capaces de inhibir a la Pgp en el laboratorio. Estos compuestos actuaban fundamentalmente inhibiendo el bombeo de la droga hacia el exterior de la célula, aumentando su concentración intracelular. Desde entonces, saturar o modular la función de la Pgp ha sido y es una estrategia para intentar modificar la MDR ligada a esta proteína (15,96,108,).

Primera generación de inhibidores

Junto al verapamilo, la primera generación de inhibidores incluía a la quinidina, amiodarona, nicardipina, nifedipina, quinina, tamoxifeno y ciclosporina A. Muchos de ellos tienen característica química comunes, son inhibidores competitivos y todos son altamente lipofílicos (89). Una vez conocida la capacidad de estas sustancias para inhibir la Pgp, se iniciaron ensayos clínicos con la intención de revertir la resistencia a la quimioterapia (108). Estos primeros estudios se realizaron con diferentes regímenes de quimioterapia y en diferentes tumores. Sus resultados no encontraron que la inhibición de la Pgp fuera importante para el tratamiento del cáncer, pero estos estudios tenían importantes defectos. No estaba claramente establecido que los pacientes fueran resistentes a la quimioterapia empleada, ni cual era el valor de Pgp como mediador de resistencia en los tumores estudiados. El inhibidor utilizado, carecía de potencia inhibidora a las concentraciones alcanzadas en suero o, incluso, no tenía eficacia inhibidora comprobada (108). Cuando se intentaba conseguir in vivo, las concentraciones efectivas in vitro, la toxicidad era muy importante, y al intentar disminuir esta, se utilizaban concentraciones subóptimas (109). Hay que tener en cuenta que in vitro, los niveles de expresión de Pgp en células resistentes son del orden de 400-1000 veces el de las células sensibles, mientras que a nivel clínico, este se sitúa alrededor de 10 veces (108). Por otro lado, los inhibidores pueden originar un importante aumento de la toxicidad por interacciones farmacocinéticas impredecibles con la quimioterapia, ya que pueden bloquear la función de Pgp en los tejidos normales, y muchos son sustratos para otros transportadores y sistemas enzimáticos (96,108). Un efecto directo sería el aumento de la mielosupresión al bloquear la función detoxificante de la Pgp a nivel de las células precursoras de la hematopoyesis. Uno indirecto, sería alterar la eliminación del fármaco por bloqueo de la Pgp en riñón y canalículos biliares (89). Por ello, muchos estudios eran en realidad trabajos de escalada de dosis de la quimioterapia empleada. Se intentó solucionar este problema, disminuyendo la dosis de quimioterapia, para que la combinación con agentes moduladores fuera igual de tóxica que la quimioterapia sola (89), pero las variaciones

individuales hicieron impredecible el resultado de estas interacciones farmacológicas, conduciendo a una infra o sobredosificación en numerosos pacientes (96,108).

Se han publicado algunos resultados positivos con verapamilo en mieloma múltiple (110), no confirmados posteriormente en un estudio aleatorizado (111). Otros estudios aleatorizados, usando quinina en síndrome mielodisplásico (112), ciclosporina en leucemia mieloide aguda y un pequeño estudio con verapamilo en cáncer de pulmón no célula pequeña, han resultado positivos, mientras que otro en cáncer de pulmón de célula pequeña (Error! Reference source not found.) no demostró ningún beneficio.

La cinchonina, un isómero de la quinina, está siendo probada en síndromes linfoproliferativos avanzados (33). El disulfirán, empleado desde hace muchos años para el tratamiento del alcoholismo, parece ser también un potente inhibidor de la Pgp (113,114).

Segunda generación de inhibidores

Esta nueva generación de moduladores incluye a dexverapamilo, dextingulidipino, PSC 833 o valsopodar y VX-710 o biricodar. Todos ellos son más potentes y menos tóxicos que sus predecesores (96). El valsopodar o PSC 833, un análogo de la ciclosporina D, es un inhibidor no competitivo de la Pgp que se une a esta con gran afinidad, pero no puede ser transportado por ella, su potencia inhibidora es 5-20 veces superior que la ciclosporina A. Se considera al PSC 833 como uno de los más prometedores moduladores, al poderse conseguir, niveles efectivos en suero en combinación con agentes citotóxicos, sin aumentar la toxicidad (89). A pesar de ello, se ha producido el cierre prematuro de un estudio en pacientes con leucemia mieloide aguda, al detectarse una elevada mortalidad precoz, en la rama de pacientes que recibían el modulador (115). En realidad, los inhibidores de segunda generación, también alteran el metabolismo y la excreción de los agentes citotóxicos, muy probablemente por competencia con el citocromo P450 3A4 del que también son sustratos, pudiendo condicionar también una inaceptable toxicidad (96,108). El VX-710 o biricodar es un derivado pipercolinado que es actualmente objeto de extenso estudio. Tiene una alta afinidad por Pgp, pero también inhibe a Mrp1 (116).

Los estudios clínicos con estos moduladores de segunda generación han tenido un limitado éxito en el tratamiento de algunos tumores refractarios (96,108).

Tercera generación de inhibidores

Estos moduladores intentan mejorar las limitaciones de los anteriores. Se trata de potentes y específicos inhibidores de Pgp que no afectan al citocromo P450 3A4 y tampoco parecen inhibir otros transportadores ABC. En los estudios clínicos realizados, no parecen afectar la farmacocinética de la quimioterapia no siendo necesarias las reducciones de dosis. Uno de los más prometedores es el tariquidar (XR9576), un derivado antranilamídico. El Tariquidar es un inhibidor no competitivo que parece que se une a Pgp en la misma zona que el ATP, inhibiendo la actividad ATPasa de esta. Su activi-

dad es mucho más potente y duradera que la de otros moduladores. En pacientes con tumores sólidos no altera la farmacocinética de paclitaxel, vinorelbina ni doxorubicina. Actualmente se realizan estudios fase III con tariquidar en enfermos de NSCLC (96). Otros inhibidores de tercera generación en estudio son: LY335979 o zosuquidar, un derivado de la quinolona que parece también afectar poco a la quimioterapia (117). GG120918 o elacridar, un derivado de la acridonecarboxamida inhibidor de la Pgp capaz de modular también a Bcrp (R101933 o laniquidar y ONT-093 (96).

No existe en la actualidad posibilidad de revertir la resistencia de Mrp1 ya que no se dispone de inhibidores específicos. Potentes inhibidores competitivos, serían los aniones orgánicos que son sustratos de alta afinidad para esta proteína como el leukotrieno C4. Otros inhibidores podrían ser los ácidos orgánicos como la sulfinpirazona o el probenecid. El problema es que la mayoría de estos compuestos aniónicos no entran en la célula y no son buenos como punto de partida para el desarrollo de drogas moduladoras. Los buenos inhibidores deberían de partir probablemente como prodrogas con carga neutra (21). La ausencia de moduladores específicos hace muy difícil el análisis de la contribución de Mrp1 en la resistencia a la quimioterapia (21).

No se conoce actualmente ninguna forma de modular in vitro o in vivo a Lrp (33).

MDR-PROTEÍNAS EN TUMORES SÓLIDOS

Pgp (P-glycoprotein)

Se ha detectado expresión de Pgp en numerosos tumores sólidos (59), aumentando esta tras exposición a la quimioterapia (118,,119). Es frecuente encontrar una elevada expresión de Pgp en pacientes no tratados con cáncer de colon, riñón, hígado, suprarrenales y páncreas entre otros (Error! Reference source not found.59). Existen datos de que la presencia de Pgp puede condicionar por si misma un mal pronóstico, con independencia de su acción sobre la respuesta a la quimioterapia (120,121,122). Es posible que Pgp pueda transportar factores de crecimiento no identificados que estimulen a las células cancerosas, o factores de angiogénesis, desde el interior de la célula al compartimento extracelular (123). La relación de Pgp con la respuesta a la quimioterapia y otros parámetros clínicos, es aún más controvertida que en las neoplasias hematológicas (59). Su expresión se ha relacionado con una peor respuesta a la quimioterapia y/o un peor pronóstico en tumores como, sarcomas y neuroblastomas infantiles (124,125), cáncer de mama (60126), colon (122), vejiga (119), ovario (127), hepatoblastomas (128), carcinoma nasofaríngeo (129), retinoblastoma (130), osteosarcomas (131,132). Por el contrario, otros autores no encuentran tal relación en carcinomas gástricos (133), cáncer renal (134), ovario (135,136), osteosarcomas (137), mama (138), mesoteliomas (139). Como se aprecia los resultados son contradicto-

rios para algunos tipos de tumor como los osteosarcomas o el cáncer de mama. En la actualidad el papel de Pgp en la resistencia al tratamiento quimioterápico en tumores sólidos está por determinar.

Mrp1 (Multidrug Resistance-Associated Protein1)

Mrp1 ha sido detectada en una amplia variedad de neoplasias sólidas Tal como ocurre con Pgp, algunos autores han encontrado que puede ser factor pronóstico independiente en determinados tumores, como neuroblastomas o cáncer de mama .ambién parece tener una mayor expresión en sarcomas intestinales paralela a su agresividad clínica), o en cáncer de próstata según aumenta el estadio. Por otro lado se ha relacionado con una peor respuesta a la quimioterapia en cáncer de vejiga y retinoblastomas. Para otros tipos de tumor no se ha detectado relación significativa con su pronóstico o comportamiento frente a la quimioterapia, tal es el caso del cáncer gástrico, renal, ovárico, cabeza y cuello y mesotelioma. Se ha descrito elevada expresión de Mrp1 y baja de Pgp en el carcinoma anaplásico de tiroides (Como en el caso de Pgp, dadas las características de la mayoría de los estudios, no es posible establecer ninguna conclusión firme con respecto a la relación con la resistencia a la quimioterapia.

Lrp (Lung Resistance-Related Protein)

Su papel con respecto a la resistencia a la quimioterapia en tumores sólidos es desconocido. En algunos estudios en cáncer de ovario avanzado, la expresión de Lrp se ha relacionado significativamente con una peor respuesta a la quimioterapia y supervivencia), pero en otros, no se ha encontrado esta relación, e incluso, se ha asociado a características clinicopatológicas favorables como estadio precoz, bajo grado histológico y poco volumen residual tras cirugía. En cáncer colorectal su expresión es muy frecuente, pero no parece relacionarse con ningún parámetro clínico, salvo una tendencia a una prolongada supervivencia para los pacientes con altos niveles de expresión. En pacientes con sarcomas de parte blandas y melanoma, el tratamiento con melfalán, induce un aumento de la expresión de Lrp en la mayoría de los pacientes, sin afectar prácticamente la expresión de Pgp y Mrp1. Su expresión parece aumentar con el estadio en el cáncer de próstata.En cáncer de mama también presenta una elevada expresión, pero como sucede con las demás MDR-proteínas, con resultados dispares en lo que respecta a su relación con la quimioterapia y otros factores clínicos

De acuerdo con todo o expuesto, podemos suponer que en un futuro inmediato el papel de la quimioterapia antitumoral en tumours sólidos estará determinada por la expresión de éstas proteína en el tejido tumoral que indicarán y seleccionarán aquellos pacientes teniendo en cuenta la posible utilidad y posibilidades de la quimioerapia en los mismos.

Referencias

- 1.-Beck WT, Dalton WS. Mechanisms of Drug Resistance. Cancer, Principles and Practice of Oncology, 5th Edition. Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. JB Lippincott Company, Philadelphia 1997: 498-512.
- 2.-Chu E, DeVita VT. Principles of Cancer Management: Chemotherapy. Cancer, Principles and Practice of Oncology, 6th Edition. Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. JB Lippincott Company, Philadelphia 2001: 289-386.
- 3.-Skipper HE, Schabel FM, Wilcox WS. Experimental evaluation of potential anticancer agents XII: on the criteria and kinetics associated With "curability" of experimental leukemia. Cancer Chem Rep, 1964; 35: 1.
- 4.-Goldie JH, Coldman AJ. A mathematic model for relating the drug sensitivity of tumors to their spontaneous mutation rate. Cancer treat Rep 1979; 63 1727-1731.
- 5.-Skipper HE, Simpson-Herren L. Relationship Between Tumor Stem Cell Heterogeneity and Responsiveness to Chemotherapy. Important Advances in Oncology 1985. Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. JB Lippincott Company, Philadelphia 1985: 63-77.
- 6.-Nishio K, Nakamura T, Koh Y et al: Drug resistance in lung cancer. Current Opinion in Oncology 1999; 11: 109-115.
- 7.-Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. Cancer 1981; 47(1): 207-214
- 8.-Carney DN, Shepherd FA. Treatment of SCLC: Chemotherapy. Textbook of Lung Cancer. Editado por Heine H Hansen. Martín Dunitz Ltd, London 2000: 261-272.
- 9.-Shepherd FA, Carney DN. Treatment of NSCLC: Chemotherapy. Textbook of Lung Cancer. Editado por Heine H Hansen. Martín Dunitz Ltd, London 2000: 213-242.
- 10.-Doyle LA. Mechanisms of Drug Resistance in Human Lung Cancer Cells. Semin Oncol 1993; 20: 326-337.
- 11.-Lehnert M. Clinical Multidrug Resistance in Cancer: A Multifactorial Problem. Eur J Cancer 1996; 32A(6): 912-920.
- 12.-Koomagi R, Mattern J, Volm M. Glucose-related protein (GRP78) and its relationship to the drug-resistance proteins P170, GST-pi, LRP56 and angiogenesis in non-small cell lung carcinomas: Anticancer Res 1999 Sep-Oct; 19(5B): 4333-4336.
- 13.-Bradshaw D, Arcenci RJ. Clinical Relevance of Transmembrane Drug Efflux as a Mechanism of Multidrug Resistance. J Clin Oncol 1998; 16(11): 3674-3690
- 14.-Duchesne MG. Fundamental bases of combined therapy in lung cancer: cell resistance to chemotherapy and radiotherapy. Lung Cancer 1994; 10 (Suppl. 1): S67-S72.
- 15.-Dalton WS. Overcoming the Multidrug-Resistant Phenotype. Cancer, Principles and Practice of Oncology. Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. JB Lippincott Company, Philadelphia 1993. 2655-2666.
- 16.-Simon MF, Schindler M. Cell biological mechanisms of multidrug resistance in tumors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1994; 91, Abril: 3497-3504.
- 17.-Tan B, Pivnicka-Worms D, Ratner L. Multidrug resistance transporters and modulation. Current Opinion in Oncology 2000; 12: 450-458.
- 18.-Tamm I, Schriever F, Dörken B. Apoptosis: implications of basic research for clinical oncology. Lancet Oncol 2001; 2: 33-42.
- 19.-Morrow ChS, Cowan KH. Mechanisms of Antineoplastic Drug Resistance. Cancer, Principles and Practice of Oncology, 4th Edition. Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. JB Lippincott Company, Philadelphia 1993: 340-348
- 20.-Ishikawa T, Ali-Osman F. Glutathione-Associated Cis-Diammine-Dichloroplatinum (II) Metabolism And ATP-Dependent Efflux From Leukemia Cells. J Biol Chem 1993; 268: 20116-20125.
- 21.-Borst P, Evers R, Kool M, et al. A Family of Drug Transporters: the Multidrug Resistance-Associated Proteins. J Natl Cancer Inst 2000; 92: 1295-1302.
- 22.-Volm M, Mattern J, Samsel B. Overexpression of P-glycoprotein and glutathione S-transferase-pi in resistant non-small-cell lung carcinomas of smokers. Br J Cancer 1991; 64(4): 700-704
- 23.-Kreisholt J, Sorensen M, Jensen PB, et al. Immunohistochemical detection of DNA topoisomerase IIalpha, P-glycoprotein and multidrug resistance protein (MRP) in small-cell and non-small-cell lung cancer. Br J Cancer 1998; 77(9): 1469-1473.
- 24.-Plasencia C, Tarón M, Abad A, et al. Genes de quimiorresistencia. Manual de Oncología Clínica y Molecular. Editado por R. Rosell, A. Abad. M. Monzó. A. Barnadas. Arán Ediciones S.A. Madrid 2000: 145-159
- 25.-Scagliotti GV, Novello S, Selvaggi G. Multidrug resistance in non-small-cell lung cancer. Annals of Oncology 1999; 10 (Suppl. 5): S83-S86.
- 26.-Drake Fh, Hofmann GA, Bartus HF, et al. Biochemical and Pharmacological properties of p170 and p180 forms of topoisomerase II. Biochemistry 1989; 28 (20): 8154-8160.
- 27.-Stewart CF, Ratain MJ. Topoisomerase Interactive Agents. Cancer, Principles and Practice of Oncology, 6th Edition. Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. JB Lippincott Company, Philadelphia 2001: 415-431.
- 28.-Giaccone G, van Ark-Otte J, Scagliotti G, et al. Differential expression of DNA topoisomerases in non-small-cell lung cancer and normal lung. Biochim Biophys Acta 1995; 1264: 337-346.
- 29.-Dingemans AC, van Ark-Otte J, Span S, et al : Topoisomerase IIalpha and other drug resistance markers in advanced non-small cell lung cancer. Lung Cancer 2001 May; 32(2): 117-128.
- 30.-Rosell R, Monzo M, Alberola V, et al. Determinants of Response and Resistance to Cytotoxics. Semin Oncol; Vol 29, No1, Suppl 4 (February), 2002: 110-118.
- 31.-Yang HH, Ma MH, Vescio RA, et al. Overcoming Drug Resistance In Multiple Myeloma: The Emergence Of Therapeutic Approaches To Induce Apoptosis. J Clin Oncol 2003; 21(22): 4239-4247.
- 32.-Leonard CJ, Canman CE, Kastan MB. The role of p53 in cell-cycle control and apoptosis: implications for cancer. Important advances in oncology 1995. Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. JB Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia 1995: 33.
- 33.-Marie JP. Drug resistance in hematologic malignances. Current Opinion in Oncology 2001; 13: 463-469.
- 34.-Chin KV, Ueda K, Pastan I, et al. Modulation of activity of the promoter of the human MDR1 gene by Ras and p53. Science 1992; 2: 459-62.
- 35.-Harada T, Ogura S, Yamakazi K, et al. Predictive value of expression of P53, Bcl-2 and lung resistance-related protein for response to chemotherapy in non-small cell lung cancers. Cancer Science 2003; 94(4): 394-399.
- 36.-Kawasaki M, Nakanishi Y, Kuwano K, et al. Immunohistochemically Detected p53 and P-glycoprotein Predict the Response to Chemotherapy in Lung Cancer. Eur J Cancer 1998, 34(9): 1352-1357.
- 37.-Galimberti S, Marchetti A, Buttitta F, et al: Multidrug resistance related genes and p53 expression in human non small cell lung cancer. Anticancer Res 1998 Jul-Aug; 18(4c): 2973-2976.
- 38.-Schiller JH, Adak S, Feins RH, et al. Lack of Prognostic Significance of P53 and K-ras Mutations in Primary Resected Non-Small-Cell lung Cancer on E4592: A Laboratory Ancillary Study on an Eastern Cooperative Oncology Group Prospective Randomized Trial Of Postoperative Adjuvant Therapy. J Clin Oncol 2001; 19: 448-457
- 39.-Johnson EA, Klimstra DS, Herndon JE 2nd, et al. Aberrant p53 staining does not predict cisplatin resistance in locally advanced non-small cell lung cancer. Cancer Invest 2002; 20(5-6): 686-692.
- 40.-Wang Q, Beck WT. Transcriptional suppression of multidrug resistance-associated protein (MRP) gene expression by wild-type p53. Cancer Res 1998; 58: 5762-5769.
- 41.-Smyth M, krasovskis E, Sutton V, et al. The drug efflux protein, P-glycoprotein, additionally protects drug-resistant tumor cells from multiple forms of caspase-dependent apoptosis. Proc Natl Acad Sci USA 1988, 95: 7024-7029.
- 42.-Solary E, Droin N, Bettaieb A, et al. Positive and negative regulation of apoptotic pathways by cytotoxic agents in hematological malignances. Leukemia 2000; 14: 1833-1849.
- 43.-Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug Resistance In Cancer : Role Of Atp-Dependent Transporters. Nature Reviews Cancer 2002; 2: 48-58
- 44.-Dano K. Active outward transport of daunomycin in resistant Ehrlich ascitis tumor cells. Biochim Biophys Acta 1973; 323: 466-483.
- 45.-Juliano RL, Ling V. A Surface Glycoprotein Modulating Drug Permeability In Chinese Hamster Ovary Cell Mutants. Biochim Biophys Acta 1976; 455:152-162.
- 46.-Kartner N, Riordan JR, Ling V. Cell surface P-glycoprotein associated with multidrug resistance in mammalian cell lines. Science 1983; 221: 1285-1288.
- 47.-Cole SPC, Bhardwaj G, Gerlach JH, et al. Overexpression of a Transporter Gene in a Multidrug-Resistant Human Lung Cancer Cell Line. Science 1992; 258: 1650-1654.
- 48.-Cordón-Cardo C, O'Brian JP. El Fenotipo de Resistencia a Múltiples Fármacos en el Cáncer Humano. Avances en Oncología 1991 (Edición española). Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. Espaxs, S. A. Barcelona 1992: 35-55
- 49.-Goldstein LJ, Galski H, Fojo A, et al. Expression of a Multidrug Resistance Gene in Human Cancers. JNCI 1989; 81: 116-124.
- 50.-Zaman GJR, Flens MJ, Van Leusen MR, et al. The Human Multidrug Resistance-associated Protein MRP is a Plasma Membrane Drug-Efflux Pump. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 8822-8826.

- 51.-Koomagi R, Stammer G, Manegold C, et al. Expression of resistance-related proteins in tumoral and peritumoral tissues of patients with lung cancer. *Cancer Lett* 1996 Dec 20; 110(1-2): 129-136.
- 52.-Kitazono M, Sumizawa T, Takebayashi Y, et al. Multidrug resistance and the lung resistance-related protein in human colon carcinoma SW-620 cells. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1647-1653.
- 53.-Scheffer GL, Wijngaard PLJ, Flens MJ, Izquierdo MA, et al. The drug resistance-related protein LRP is the human major vault protein. *Nature Med* 1995; 1: 578-582.
- 54.-Pallis M, Russell N: P-glycoprotein plays a drug-efflux-independent role in augmenting cell survival in acute myeloblastic leukemia and is associated with modulation of a sphingomyelin-ceramide apoptotic pathway. *Blood* 2000; 95: 2897-2904
- 55.-Lincke CR, Smitt JJ, van der Velde-Koerts T, et al. Structure Of The Human MDR3 Gene And Physical Mapping Of The Human MDR Locus. *J Biol Chem* 1991; 266: 5303-5310.
- 56.-de Vree JM, Jacquemin E, Sturm E, et al. Mutations in the MDR3 gene cause progressive familial intrahepatic cholestasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 282-7.
- 57.-Scheffer GL, Pijnenborg ACLM, Smit EF, et al. Multidrug resistance related molecules in human and murine lung. *J Clin Pathol* 2002; 55: 332-339.
- 58.-Sugawara I, Akiyama S, Scheper RJ, et al. Lung resistance protein (LRP) expression in human normal tissues comparison with that of MDR1 and MRP. *Cancer Lett* 1997; 112(1): 23-31.
- 59.-Godstein LJ. MDR1 Gene Expression in Solid Tumours. *Eur J Cancer* 1996; 32A(6): 1039-1050.
- 60.-Trock B, Leonessa F, Clarke R. Multidrug Resistance In Breast Cancer: A Meta-Analysis Of MDR1/Gp170 Expression And Its Possible Functional Significance. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 917-931.
- 61.-Ng I, Lam K, Ng M, et al. Expression of P-glycoprotein, a multidrug-resistance gene product, is induced by radiotherapy in patients with oral squamous cell carcinoma. *Cancer* 1998; 83: 851-857
- 62.-Rappa G, Loico A, Flavell R, et al. Evidence that the multidrug resistance protein (MRP) functions as a co-transporter of glutathione and natural product toxins. *Cancer Res* 1997; 57:5232-5237.
- 63.-Grant CE, Valdimarsson G, Hipfner DR, et al. Overexpression of Multidrug Resistance-Associated Protein (MRP) Increases Resistance to Natural Product Drugs. *Cancer Res* 1994; 54: 357-361.
- 64.-Young LC, Campling BG, Voskoulou-Nomikos T, et al. Expression of Multidrug Resistance Protein-related Genes in Lung Cancer : Correlation with Drug Response. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 673-680.
- 65.-Thomas GA, Barrand MA, Stewart S, et al. Expression of the Multidrug Resistance-Associated Protein (MRP) Gene in Human Lung Tumours and Normal Tissue as Determined by In Situ Hybridisation. *Eur J Cancer* 1994; 30:1705-1709.
- 66.-Jedlitschky G, Leier I, Buchholz U, et al. ATP-dependent transport of glutathione S-conjugates by the multidrug resistance-associated protein. *Cancer Res* 1994; 54: 4833-4836.
- 67.-Busse WW. Leukotrienes and inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: S2 10-13.
- 68.-Young LC, Campling BG, Cole SPC, et al. Multidrug Resistance Proteins MRP3, MRP1, and MRP2 in Lung Cancer : Correlation of Protein Levels with Drug Response and Messenger RNA Levels. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1798-1804.
- 69.-Oguri T, Isobe T, Fujitaka K, et al. Association between expression of the MRP3 gene and exposure to platinum drugs in lung cancer. *Int J Cancer* 2001 Aug 15; 93(4): 584-589.
- 70.-Scheper RJ, Broxterman HJ, Scheffer GL, et al. Overexpression of a Mr 110.000 Vesicular Protein in Non-P-Glycoprotein-Mediated Multidrug Resistance. *Cancer Res* 1993; 53: 1475-1479.
- 71.-Slovak ML, Pelkey Ho J, Cole SPC, et al. The LRP gene encoding a major vault protein associated with drug resistance maps proximal to MRP on chromosome 16 : Evidence that chromosome breakage plays a key role in MRP or LRP gene amplification. *Cancer Res* 1995; 55: 4214-4219.
- 72.-Kedersha NL, Rome LH. Isolation and Characterization of a Novel Ribonucleoprotein Particle: Large Structures Contain a Single Species of Small RNA. *J Cell Biol* 1986; 103: 699-709.
- 73.-Chugani DC, Rome LH, Kedersha NL. Evidence that Vault Ribonucleoprotein Particles Localize to The Nuclear Pore Complex. *J Cell Sci* 1993; 106: 23-29.
- 74.-Dingemans AMC, van Ark-Otte J, van der Valk P, et al. Expression of the human major vault protein LRP in human lung cancer samples and normal lung tissues. *Annals of Oncology* 1996; 7: 625-630
- 75.-Izquierdo MA, Scheffer GL, Flens MJ, et al. Broad distribution of the multidrug resistance-related vault lung resistance protein in normal human tissues and tumors. *Am J Pathol* 1996; 148: 877-887
- 76.-Izquierdo MA, Shoemaker RH, Flens MJ. Et al. Overlapping phenotypes of multidrug resistance among panels of human cancer-cell lines. *Int J Cancer* 1996; 65: 230-237.
- 77.-Ikeda K, Oka M, Narasaki F, et al. Lung resistance-related protein gene expression and drug sensitivity in human gastric and lung cancer cells. *Anticancer Res* 1998; 18(4C): 3077-3080.
- 78.-Allikmets R, Schriml L, Hutchinson A, et al. A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on chromosome 4q22 that is involved in multidrug resistance. *Cancer Res* 1998; 58: 5337-5339.
- 79.-Miyake K, Mickley L, Litman T, et al. Molecular cloning of cDNA which are highly overexpressed in mitoxantrone-resistant cells: demonstration of homology to ABC transport genes. *Cancer Res* 1999; 59: 8-13.
- 80.-Ross D, Yang W, Abruzzo L. Et al. Atypical multidrug resistance: breast cancer resistance protein messenger RNA expression in mitoxantrone-selected cell lines. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 429-433.
- 81.-Maliepaard M, van Gastelen MA, de Jong LA, et al. Overexpression of the BCRP/MXR/ABCP gene in a topotecan selected ovarian tumor cell line. *Cancer Res* 1999; 59(18): 4559-4563.
- 82.-Ross DD, Karp JE, Chen TT, et al. Expression of breast cancer resistance protein in blast cells from patients with acute leukemia. *Blood* 1999; 96: 365-368.
- 83.-Kawabata S, Oka M, Soda H, et al. Expression and functional analyses of breast cancer resistance protein in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9(8): 3052-3057.
- 84.-Faneyte IF, Kristel PM, Maliepaard M, et al. Expression of the breast cancer resistance protein in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1068-1074.
- 85.-Broxterman HJ, Lankelma J, Pinedo HM. Et al. How to Probe Clinical Tumour Samples for P-glycoprotein and Multidrug Resistance-associated Protein. *Eur J Cancer* 1996; 32A(6): 1024-1033.
- 86.-Campling BG, Young LC, Baer KA, et al. Expression of the MRP and MDR1 multidrug resistance genes in small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1997 Jan; 3(1):115-122
- 87.-Duhem C, Ries F, Dicato M. What does Multidrug Resistance (MDR) Expression Mean in the Clinic?. *The Oncologist* 1996; 1: 151-158.
- 88.-Twentyman PR. MDR1 (P-glycoprotein) Gene Expression. Implications for Resistance Modifier Trials. *JNCI* 1992; 84: 1458-1460.
- 89.-Sonneveld P. Multidrug resistance in hematological malignancies. *J Intern Med* 2000; 247: 521-534.
- 90.-Baumforth KNR, Nelson PN, Digby JE, et al. The Polymerase chain reaction. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 1999; 52: 1-10.
- 91.-Giaccone G, van Ark-Otte J, Rubio GJ, et al. MRP is frequently expressed in human lung-cancer cell lines, in non-small-cell lung cancer and in normal lungs. *Int J Cancer* 1996 Jun 11; 66(6): 760-767.
- 92.-Beck WT, Grogan TM, Willman CL, et al. Methods to detect P-glycoprotein-associated multidrug resistance in patients tumours: consensus recommendations. *Cancer Res* 1996; 56: 3010-3020
- 93.-Scagliotti GV, Michelotto F, Kalikatzaros G, et al. Detection of Multidrug Resistance Associated P-170 Glycoprotein in Previously Untreated Non Small Cell Lung Cancer. *Anticancer Res* 1991; 11: 2207-2210
- 94.-Wright S, Boag A, Valdimarsson G, et al. Immunohistochemical detection of multidrug resistance protein in human lung cancer and normal lung. *Cancer Res* 1998; 4: 2279-2289.
- 95.-Xu M, Li J, Xia Q. Expression of multidrug resistance-associated protein gene in non-small cell lung cancer. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1999 May; 22(5): 268-270.
- 96.-Thomas H, Coley HM. Overcoming Multidrug Resistance in Cancer: An Update on the Clinical Strategy of Inhibiting P-Glycoprotein. *Cancer control* 2003; 10(2): 159-165.
- 97.-Hendrikse NH, Franssen EJ, van-der-Graaf WT, et al. 99mTc-sestamibi is a substrate for P-glycoprotein and the multidrug resistance associated protein. *Br J Cancer* 1998; 77:353-358.
- 98.-Cayre A, Cachin F, Maublant J, et al. Single static view 99mTc-sestamibi scintimammography predicts response to neoadjuvant chemotherapy and is related to MDR expression. *Int J Oncol* 2002; 20(5): 1049-1055
- 99.-Gorlik R, Liao AC, Antonescu C, et al. Lack of Correlation of Functional Scintigraphy with 99mTechnetium-Methoxyisobutylisonitrile with Histological Necrosis Following Induction Chemotherapy or Measures of P-Glycoprotein Expression in High-Grade Osteosarcoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 3065-3070.
- 100.-Kostakoglu L, Kiratli P, Ruacan S, et al. Association of tumor washout rates and accumulation of technetium-99m-MIBI with expression of P-glycoprotein in lung cancer. *J Nucl Med* 1998 Feb; 39(2): 228-234.
- 101.-Kao A, Shiun SC, Hsu NY, et al. Technetium-99m methoxyisobutylisonitrile chest imaging for small cell lung cancer: Relationship to chemotherapy response (six courses of combination of cisplatin and etoposide) and p-gly-

- coprotein or multidrug resistance related protein expression. *Ann Oncol* 2001 Nov; 12(11): 1516-1566.
- 102.-Zhou J, Higashi K, Ueda Y, et al. Expression of multidrug resistance protein and messenger RNA correlate with (99m)Tc-MIBI imaging in patients with lung cancer. *J Nucl Med* 2001 Oct; 42 (10): 1476-83.
- 103.-Kao CH, Changlai SP, Chieng PU, et al. Technetium-99m Methoxyisobutylisonitrile Chest Imaging of Small Cell Lung Carcinoma. *Cancer* 1998; 83(1): 64-68
- 104.-Shiau Y, Tsai S, Wang J, et al. To predict chemotherapy response using technetium-99m tetrofosmin and compare with p-glycoprotein and multidrug resistance related protein-1 expression in patients with untreated small cell lung cancer. *Cancer Lett.* 2001; 169: 181-188
- 105.-Dirlik A, Burak Z, Goksel T, et al. The role of Tc-99m sestamibi imaging in predicting clinical response to chemotherapy in lung cancer. *Ann Nucl Med* 2002 Apr; 16(2):103-108.
- 106.-Shi D, Huang G, Miao J, et al. Correlation of the uptake of technetium-99 methoxyisobutyl isonitrilo with expression of multidrug resistance genes *mdr-1* and *MRP* in human lung cancer. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2002 Jun 25; 82(12): 824-827.
- 107.-Kuo TH, Liu FY, Chuang CY. To predict response chemotherapy using technetium-99m tetrofosmin chest images in patients with untreated small cell lung cancer and compare with p-glycoprotein, multidrug resistance related protein-1, and lung resistance-related protein expression. *Nuclear Med Biol* 2002; 30(6): 627-632.
- 108.-Bates SE, Chen C, Robey R, et al: Reversal of multidrug resistance: lessons from clinical oncology. *Novartis Foundation Symposium* 243, 2002: 83-102.
- 109.-Pennock GD, Dalton WS, Roeske WR, et al. Systemic toxic effects associated with high dose verapamil infusion and chemotherapy administration. *JNCI* 1991; 83: 105-110.
- 110.-Salmon SE, Dalton WS, Grogan TM, et al. Multidrug resistant myeloma: Laboratory and clinical effects of Verapamil as a chemosensitizer. *Blood* 1991; 78: 44-50.
- 111.-Dalton WS, Crowley JJ, Salmon SS, et al. A phase III randomized study of oral verapamil as a chemosensitizer to reverse drug resistance in patients with refractory myeloma. A South-West Oncology Group study. *Cancer* 1995; 75: 815-820.
- 112.-Wattel E, Solary E, Hecquet B, et al. Quinina improves the results of intensive chemotherapy in myelodysplastic syndromes expressing P-glycoprotein: results of a randomized study. *Br J Haematol* 1998; 102: 1015-1024.
- 113.-Milroy R. A randomized clinical study of verapamil in addition to combination chemotherapy in small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 1993; 68: 813-818.
- 114.-Loo TW, Clarke DM: Blockage of drug resistance in vitro by disulfiram, a drug used to treat alcoholism. *JNCI* 2000; 92: 898-902.
- 115.-Baer MR, George SL, Dodge RK, et al. Phase III study of the multidrug resistance modulator PSC-833 in previously untreated patients 60 Years of age and older with acute myeloid leukemia: Cancer and Leukemia Group B Study 9720. *Blood* 2002; 100: 1224-1232.
- 116.-Rowinsky EK, Smith L, Wang YM, et al. Phase I and pharmacokinetic study of paclitaxel in combination with bricodar, a novel agent that reverses multidrug resistance conferred by overexpression of both *MDR1* and *MRP*. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2964-2976.
- 117.-Dantzig AH, Law KL, Cao J, et al. Reversal of multidrug resistance by the P-glycoprotein modulator, LY335979, from the bench to the clinic. *Curr Med Chem* 2001; 8: 39-50.
- 118.-Petrylack DP, Sher HI, Reuter V, et al. Expresión de P-glicoproteína en el carcinoma de células transicionales de vejiga primario y metastásico. *Ann Oncol* (ed. español) 1995; 1: 68-74
- 119.-Tada Y, Wada M, Migata T, et al. Increased expresión of multidrug resistance-associated proteins in bladder cancer during clinical course and drug resistance to doxorubicin. *Int J Cancer* 2002; 98(4):630-635.
- 120.-Charpin C, Vielh P, Duffaud F, et al. Quantitative immunocytochemical assays of P-glycoprotein in breast carcinomas: correlation to messenger RNA expression and to immunohistochemical prognostic indicators. *JNCI* 1994; 86: 1539-1545.
- 121.-Levine EA, Holzmayer T, Bacus S, et al. Evaluation of Newer prognostic Markers for adult Soft Tissue Sarcomas. *J Clin Oncol* 1997; 15(10): 3249-3257.
- 122.-Sinicrope FA, Hart J, Brasitus TA, et al. Relationship of P-glycoprotein and Carcinoembryonic Antigen Expression in Human Colon Carcinoma to Local Invasion, DNA Ploidy, and Disease Relapse. *Cancer* 1994; 74: 2908-2917.
- 123.-Benchimol S, Ling V. P-glycoprotein and tumor progression. *JNCI* 1994; 86: 814-816
- 124.-Chan HSL, Haddad G, Thorner PS, et al. P-Glycoprotein Expression As A Predictor Of The Outcome Of Therapy For Neuroblastoma. *New Engl J Med* 1991; 325: 1608-1614.
- 125.-Chan HSL, Thorner PS, Haddad G, et al. Immunohistochemical Detection of P-Glycoprotein: Prognostic Correlation in Soft Tissue Sarcoma of Childhood. *J Clin Oncol* 1990; 8(4): 689-704.
- 126.-Schneider J, Gonzalez-Roces S, Pollan M, et al. Expression of *LRP* and *MDR1* in locally advanced breast cancer predicts axillary node invasion at the time of rescue mastectomy after induction chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2001; 3(3): 183-191.
- 127.-Kamazawa S, Kigawa J, Kanamori Y, et al. Multidrug resistance gene-1 is a useful predictor of Paclitaxel-based chemotherapy for patients with ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2002; 86(2): 171-176.
- 128.-Warmann S, Hunger M, Teichmann B, et al. The role of the *MDR1* gene in the development of multidrug resistance in human hepatoblastoma: clinical course and in vivo model. *Cancer* 2002; 95(8):1795-1801.
- 129.-Hsu CH, Chen CL, Hong RL, et al. Prognostic value of multidrug resistance 1, glutathione-s-transferase-pi and p53 in advanced nasopharyngeal carcinoma treated with systemic chemotherapy. *Oncology* 2002; 62(4): 305-312.
- 130.-Chan HS, Lu Y, Grogan TM, et al. Multidrug resistance protein (*MRP*) expression in retinoblastoma correlates with the rare failure of chemotherapy despite cyclosporine for reversal of P-glycoprotein. *Cancer Res* 1997; 57(12): 2325-2330.
- 131.-Baldini N, Scotlandi K, Barbanti-Brodano G, et al: Expression of P-glycoprotein in high grade osteosarcoma in relation to clinical outcome. *N Engl J Med* 1995; 333: 1380-1385.
- 132.-Cheson BD. Miscellaneous Chemotherapeutic Agents. *Cancer, Principles and Practice of Oncology*, 6th Edition. Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. JB Lippincott Company, Philadelphia 2001: 452-459.
- 133.-Choi JH, Lim HY, Joo HJ, et al. Expression of multidrug resistance-associated protein 1, P-glycoprotein, and thymidylate synthase in gastric cancer patients treated with 5-fluorouracil and doxorubicin-based adjuvant chemotherapy after curative resection. *Br J Cancer* 2002; 86(10): 1578-85.
- 134.-Oudard S, Levalois C, Andrieu JM, et al. Expression of genes involved in chemoresistance, proliferation and apoptosis in clinical samples of renal cell carcinoma and correlation with a clinical outcome. *Anticancer Res* 2002 Jan-Feb; 22(1A): 121-128.
- 135.-Arts HJG, Katsaros D, de Vries EGE, et al. Drug Resistance-associated Markers P-Glycoprotein, Multidrug Resistance-associated Protein 1, Multidrug Resistance-associated Protein 2, and Lung Resistance Protein as Prognostic Factors in Ovarian Carcinoma. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 2798-2805.
- 136.-Nakayama K, Kanzaki A, Ogawa K, et al. Copper-transporting P-type adenosine triphosphate (ATP7B) as a cisplatin based chemoresistance marker in ovarian carcinoma: comparative analysis with expression of *MDR1*, *MRP1*, *MRP2*, *LRP* and *BCRP*. *Int J Cancer* 2002; 101(5): 488-495
- 137.-Wunder JS, Bull SB, Aneliunas V, et al. *MDR1* Gene Expression and Outcome in Osteosarcoma: A Prospective, Multicenter Study. *J Clin Oncol* 2000; 18(14): 2685-2694.
- 138.-Kanzaki A, Toi M, Nakayama K, et al. Expression of multidrug resistance-related transporters in human breast carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 2001; 92(4): 452-458
- 139.-Soini Y, Järvinen K, Kaarteenaho-Wiik R, et al. The expression of P-glycoprotein and multidrug resistance proteins 1 and 2 (*MRP1* and *MRP2*) in human malignant mesothelioma. *Ann Oncol* 2001; 12(9): 1239-1245.