

Evaluación preclínica de fármacos antineoplásicos

M.P. Rivera

Departamento de Farmacología y Patología Experimental. CID. CSIC.

Introducción

Desde la introducción, después de la Segunda Guerra Mundial, del primer agente citotóxico activo en la quimioterapia del cáncer, el número de fármacos disponibles en clínica para el tratamiento de este tipo de enfermedades ha aumentado de un modo continuo hasta alcanzar los cerca de 50 productos utilizados actualmente. Su uso individual y combinado posibilita la curación de diversas formas de neoplasias malignas diseminadas, tales como leucemias agudas infantiles de distintos tipos de linfomas y de algunos tipos de tumores sólidos, en especial los derivados de células germinales. Sin embargo, sigue siendo necesaria la adquisición de nuevos fármacos que permitan alcanzar la curación de otros tipos de tumores sólidos, especialmente en casos de enfermedad metastásica avanzada, cuya frecuente presentación en clínica les hace responsables del elevado índice de mortalidad atribuible a este tipo de enfermedades.

Una de las causas más importantes de la lentitud en la adquisición de nuevos productos reside en la carencia de modelos experimentales adecuados, útiles para predecir con seguridad si serán efectivos en el tratamiento del cáncer en humanos. Teniendo en cuenta que cada tipo de cáncer tiene una entidad propia, y que en un mismo tumor coexisten diversas subpoblaciones celulares clonales heterogéneas, con un comportamiento biológico, capacidad de proliferación y metástasis diferentes¹, sería utópico pensar que un solo modelo experimental pudiera ser representativo de todos los cánceres caracterizados en patología humana. No debemos olvidar, además, las complejas interacciones tumor-huésped y fármaco-tumor-huésped que condicionan también la respuesta a la acción de los posibles agentes terapéuticos.

A pesar de los grandes avances realizados en los últimos años en el conocimiento de las bases moleculares responsables de la transformación maligna celular, otra causa que dificulta la

adquisición de nuevos agentes antineoplásicos es el todavía escaso conocimiento de posibles «blancos» biológicos específicos de las células cancerosas. La identificación de estos «blancos» facilitará tanto la búsqueda de productos con nuevos mecanismos de acción, como la mejora del índice terapéutico de los actualmente disponibles. De hecho, los métodos de selección utilizados en los últimos 30 años basaron la valoración de los distintos agentes en su capacidad de interferir los mecanismos bioquímicos implicados en la replicación celular. Como consecuencia de ello, y dada la inespecificidad de los mecanismos de acción investigados, la mayor limitación clínica de los fármacos desarrollados hasta el momento reside precisamente en su bajo índice terapéutico.

Teniendo en cuenta estos condicionantes, en la actualidad la investigación preclínica de agentes antineoplásicos abarca tres campos de acción: 1) el establecimiento de modelos y protocolos de estudio representativos de los distintos tipos de cáncer y evolución de la enfermedad en humanos; 2) la identificación de nuevos agentes con efecto más selectivo sobre tumores sólidos refractarios a la acción de los fármacos disponibles. Esto supone la búsqueda de compuestos que ejerzan su efecto a través de mecanismos de acción distintos a los actualmente conocidos, y 3) el desarrollo de los nuevos agentes identificados y mejora de los productos existentes, tanto para ampliar su espectro de acción e índice terapéutico como para optimizar los sistemas y pautas de administración, mediante una formulación adecuada.

Modelos de estudio

Como se ha citado anteriormente, es prácticamente imposible que un modelo experimental único pueda ser representativo de los distintos tipos de cáncer caracterizados en humanos y de las diferentes fases de evolución de la enfermedad. De ahí, la necesidad de es-

tablecer protocolos, que combinando distintos modelos, aporten la información necesaria para decidir si la introducción del producto en ensayos clínicos posteriores es conveniente y segura.

Para cubrir estos objetivos, el protocolo deberá ser *amplio y económico*, capaz de evaluar con *rapidez* un número elevado de productos; que permita medir con mayor *especificidad* su efecto sobre los tipos de cáncer que siguen siendo refractarios a la acción de los fármacos actualmente disponibles; *seguro*, es decir, capaz de identificar falsos resultados tanto positivos como negativos y *flexible*, para establecer las indicaciones, pautas y sistemas de administración a utilizar en los ensayos clínicos posteriores.

En estos momentos existe una amplia controversia acerca de los tipos de tumor a utilizar y de si la primera evaluación debe hacerse mediante modelos experimentales *in vitro* e *in vivo*. Estudios retrospectivos llevados a cabo con fármacos actualmente utilizados en clínica han demostrado que existen claras discrepancias entre las respuestas de tumores *in vivo* y las obtenidas en cultivos *in vitro*². Las razones de estas discrepancias podrían, al menos en parte, ser consecuencia de una elección inadecuada del modelo en relación con los parámetros que se toman como «puntos finales» de valoración de la acción de los distintos agentes. No se obtendrá la misma información de pruebas realizadas sobre cultivos *in vitro* de líneas establecidas, que difícilmente conservarán todas las características del tumor de origen, de la que se derive de cultivos primarios o clonogénicos procedentes de muestras frescas de tumores humanos. También será distinta, y posiblemente complementaria, la información obtenida de tumores animales alotrasplantados de la que se derive del uso de xenotrasplantes de tumores humanos en animales inmunodeprimidos.

Los métodos *in vitro*^{3,4} se usan fundamentalmente para valorar la acción citotóxica y/o inhibidora de la proliferación celular y permiten el rastreo rápido de un gran número de agentes en un margen amplio de concentraciones, sólo limitado por su solubilidad. Son métodos económicos que requieren poca cantidad de producto para su valoración simultánea sobre distintos tipos de células tumorales, pero no aportan información sobre la influencia de la geometría del tumor, del microentorno y de la matriz extracelular sobre la evolución del tumor y cinética de poblaciones celulares. Otra dificultad estriba en que darán como falsos negativos aquellos productos que requieran de activación metabólica para ejercer su acción, sal-

vo que la misma célula tumoral sea capaz de producir el metabolito activo. Por otra parte, teniendo en cuenta que su «punto final» de evaluación es la citotoxicidad del producto, pueden dar falsos positivos en el caso de agentes que carezcan de selectividad de acción sobre las células tumorales.

Los modelos *in vivo* de tumores animales alotrasplantados⁵ comparten muchas de las características propias de la enfermedad maligna en humanos: el tumor metastatiza a órganos ajenos a los del tejido de origen, muestra heterogeneidad celular y puede presentar resistencia natural o adquirida a los agentes antineoplásicos disponibles. Los animales portadores tienen, como los humanos, tejidos sanos que deben ser protegidos de la acción de los fármacos citotóxicos, sus órganos aseguran el metabolismo y excreción del producto, presentan barreras fisiológicas que limitan su acceso al tumor y un sistema inmune que puede condicionar también la evolución de la enfermedad. Otra ventaja que aportan es la posibilidad de establecer con cierta fiabilidad los límites de dosificación, pautas y vías de administración a utilizar en ensayos clínicos en fase I. Sus mayores limitaciones son, además de su coste más elevado, la lentitud en la obtención de los resultados, y que no necesariamente son representativos de la enfermedad en humanos. Parte de estas limitaciones se pueden soslayar utilizando tumores humanos xenotrasplantados en animales inmunodeprimidos, pero en este caso no serán útiles para la identificación de agentes modificadores de la respuesta biológica.

La repercusión del modelo sobre los resultados obtenidos es especialmente evidente en el caso de leucemia linfoblástica aguda. El uso *in vivo* de L1210 y P388 permitió la identificación de muchos de los fármacos que se usan actualmente en clínica para el tratamiento de este tipo de enfermedades; pero, además, los conocimientos adquiridos con la leucemia L210 sobre cinética de proliferación celular y repoblación de un tumor a partir de una sola célula neoplásica⁶ hicieron posible establecer distintos tipos de quimioterapia combinada cuyo uso está ofreciendo muy buenos resultados en el tratamiento de otros tipos de tumores.

Protocolos de evaluación preclínica

La información que se obtiene de estudios preclínicos es escalonada, cuya primera fase consiste en llevar a cabo una selección de productos «activos». En la actualidad, y en la me-

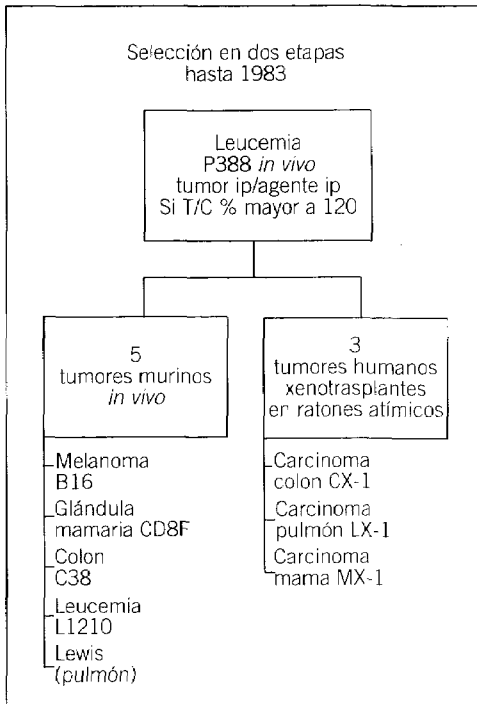


Fig. 1. Protocolo de evaluación en dos etapas. El tratamiento empieza un día después de la implantación del tumor. Se mide el tiempo medio de supervivencia de los animales tratados (T) respecto a los controles (C) y se consideran activos los agentes que producen un T/C superior al 120%.

dida de lo posible, se intenta que esta fase aporte ya información de la especificidad de acción del agente sobre distintos tipos de tumores sólidos resistentes a la acción de los fármacos disponibles. En una segunda fase se trata de confirmar los resultados positivos en otros tumores del mismo tipo histológico que aquel para el que fueron activos en la primera fase y paralelamente se prueba sobre otros tipos de tumor que estén, además, en distintos estadios evolutivos de la enfermedad. Un factor a tener en cuenta en esta fase es la relación entre el efecto obtenido y las vías de implantación del tumor en el animal y de administración del agente. Finalmente, se aplica un protocolo adecuado para establecer dosis, pautas y vías de administración a utilizar en ensayos clínicos posteriores.

El diseño del protocolo a utilizar en cada paso es uno de los puntos más importantes de la evaluación preclínica de agentes antineoplásicos y deberá hacerse en función de los objetivos que

se persigan. La elección de los modelos y protocolos experimentales condiciona en tal medida la selección de nuevos productos, que salvo el caso de un hallazgo fortuito, los fármacos que alcancen los ensayos clínicos en fase I, sólo podrán ser tan buenos como lo sean los modelos de tumor utilizados para su selección.

Hasta 1985⁷, prácticamente todos los protocolos utilizados incluían una *fase de selección primaria* que valoraba *in vivo* su actividad sobre algún tipo de leucemia murina, generalmente de L1210 para la valoración de productos de síntesis y/o la P388 para la de productos naturales y un *proceso secundario* de valoración también *in vivo* sobre un panel de 5 o 6 tumores sólidos murinos y/o algún tumor humano xenotrasplantado a ratón (fig. 1). Usualmente la vía de administración del producto y de implantación del tumor era la misma (intraperitoneal), por lo que en realidad se valoraba sólo el efecto citotóxico. En general, el planteamiento experimental presuponia que aquellos agentes que no tuvieran una actividad mínima en la selección preliminar, no pasaban a la segunda fase de evaluación, a menos que hubieran mostrado actividad sobre otros «blancos» biológicos o bioquímicos. Resultado de este tipo de protocolos fue el desarrollo de fármacos citotóxicos especialmente activos en leucemias⁸, pero que resultaron escasamente efectivos en el tratamiento de tumores sólidos, posiblemente porque los modelos utilizados no eran representativos de los tumores sólidos caracterizados en clínica.

Partiendo de estos resultados, se plantea en estos momentos la búsqueda «dirigida» por enfermedad, es decir, se pretende identificar agentes con actividad selectiva sobre los tumores sólidos más frecuentes en clínica y que no responden a la quimioterapia actual (colon, pulmón, mama, cerebro, etc.). Como se ha citado anteriormente, la utilización exclusiva de modelos *in vitro* en la primera fase de la evaluación es muy discutible, por lo que cada equipo de trabajo suele plantear el protocolo que considera más adecuado para los objetivos que se plantea. La selección de los parámetros a medir dependerá también que el efecto a valorar sea la citotoxicidad, la acción del agente sobre la cinética de proliferación celular, la evolución de la enfermedad y/o del tumor, mecanismos de acción específicos o búsqueda de agentes activos a través de mecanismos de acción distintos a los identificados hasta el momento.

Aunque el descubrimiento de fármacos antineoplásicos ha sido fruto de la investigación rea-

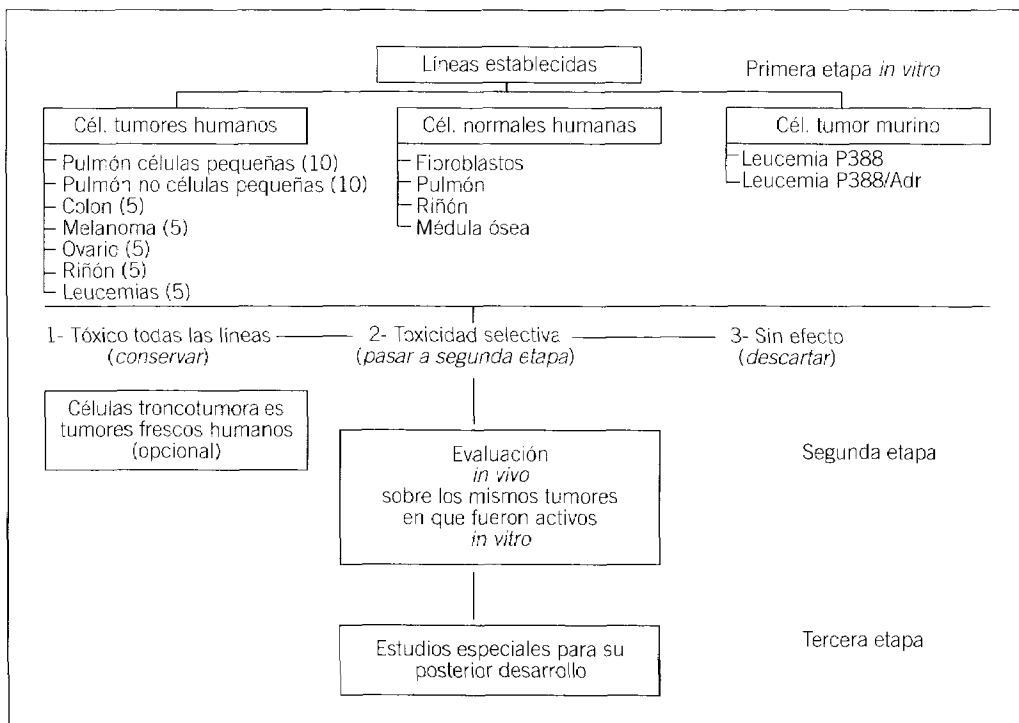


Fig. 2. Protocolo de evaluación en tres etapas. En la primera etapa se determina la concentración del producto que inhibe en un 50% el crecimiento o aquella que produce un 50% de muerte celular, sobre líneas establecidas de distintos tipos de tumores humanos. La selectividad de acción sobre las células tumorales se mide comparando el efecto de los distintos agentes sobre cultivos de células normales humanas. En los modelos *in vivo* se comparan distintas pautas y vías de administración de los productos en relación con la vía de implantación del tumor.

lizada en distintas industrias y centros académicos, el National Cancer Institute (NCI, EE.UU.) ha desempeñado un papel preponderante en el establecimiento de protocolos de selección, que han ido evolucionando a medida que fueron reevaluados según los resultados clínicos obtenidos. Así, desde 1985 el NCI estableció un protocolo⁹ teóricamente «orientado» por enfermedad y que pretendía reconocer agentes que actúen a través de mecanismos de acción no identificados hasta el momento. El protocolo se plantea en tres etapas (fig. 2), en la primera de las cuales a través del establecimiento de curvas dosis-efecto *in vitro* de los distintos agentes sobre múltiples líneas celulares representativas de distintos tipos de tumores humanos y su relación con los mismos parámetros medidos en fármacos activos con mecanismos de acción reconocido, pretenden obtener la «huella dactilar» de los nuevos agentes que

permita diferenciarlos según el mecanismo de acción. A partir de los datos obtenidos, los resultados se comparan con la ayuda de un programa informático. Paralelamente los resultados son procesados a través de otro programa informático¹⁰ que pretende establecer la relación entre la estructura química y la actividad de los distintos productos activos. Aunque este tipo de aproximación está siendo muy discutido, parece adecuado cuando se quiere utilizar para el rastreo al azar de gran número de agentes de origen natural o sintético. Otros grupos de trabajo, especialmente europeos¹¹, siguen manteniendo el uso de modelos *in vivo* en la primera etapa, concediendo gran importancia a los xenotrasplantes de tumores humanos en ratones inmunodeprimidos. En ambos casos se están obteniendo resultados positivos en la identificación de nuevos agentes con acción más selectiva sobre tumores sólidos, pero estos re-

sultados deben ser confirmados en los ensayos clínicos que se están realizando.

Vías de aproximación para la identificación de nuevos fármacos

Al igual que en otros campos de la farmacología, la evaluación preclínica de agentes antineoplásicos incide en dos áreas convencionales de investigación. Por una parte, la *identificación* de nuevos agentes potencialmente activos y, por otra, el *desarrollo* de los productos identificados de forma que su uso clínico sea seguro y eficaz. Ambos procesos requieren un flujo continuo de posibles candidatos para aumentar las probabilidades de éxito y, a su vez, condicionan y dependen de los modelos experimentales disponibles para su valoración.

La *identificación* de nuevos agentes activos puede abordarse desde distintas perspectivas:

1. *Rastreo al azar* de productos naturales (derivados de plantas, medios de fermentación, y de distintos organismos de origen terrestre o marino) o sintéticos. Como se ha citado anteriormente, este método requiere el uso de ensayos amplios, económicamente asequibles, que faciliten la evaluación rápida de un gran número de compuestos y que, en la medida de lo posible, permitan caracterizar entidades farmacológicas, productos «cabeza de serie», susceptibles de una posterior mejora en estudios secundarios. El proceso de valoración se plantea de forma que cada eslabón sea más selectivo que el anterior hasta llegar a la identificación y purificación del principio activo responsable de la acción farmacológica. Un paso crítico en esta fase es la demostración de que el principio activo purificado es lo suficientemente diferente de otros ya conocidos, para que su posterior evaluación en protocolos más amplios esté justificada.

2. *Diseño racional* de compuestos de síntesis basado en su posible interacción con un «blanco» celular de interés. Aunque no se ha identificado ningún evento «crítico» común a todas las transformaciones neoplásicas, los conocimientos adquiridos en biología molecular sugieren un cierto número de «blancos» posiblemente accesibles a la acción de nuevos agentes antineoplásicos. Si se sigue esta vía de aproximación, la acción del producto deberá ser valorada tanto sobre el «blanco» propuesto como sobre un modelo celular *in vitro* para medir las consecuencias de su efecto sobre la célula neoplásica. Una vez probado este efecto,

el agente se procesará a través de protocolos más amplios de evaluación.

3. *Síntesis de análogos* de agentes conocidos con el fin de incorporar algún tipo de mejora y/o eliminar efectos indeseables. Los objetivos a alcanzar por esta vía de aproximación pueden ser muy variados: aumentar el espectro de acción antitumoral, mejorar el índice terapéutico, aumentar su potencia de acción, disminuir su toxicidad, mejorar la formulación y/o su farmacocinética. En definitiva, la finalidad de este tipo de estudios es poder establecer la relación estructura química-actividad de series de análogos estructurales, tanto para identificar los grupos de la molécula responsables de su acción farmacológica, como aquellos cuya modificación o eliminación permitan mejorar su selectividad de acción, reducir la toxicidad y/o efectos secundarios no deseados o mejorar su farmacocinética. En este caso, los nuevos análogos deberán ser sometidos al mismo protocolo de evaluación que se utilizó con el producto de origen, para comprobar si las modificaciones introducidas en su molécula suponen una mejora real suficiente para su inclusión en ensayos clínicos posteriores.

4. *Aproximación biotecnológica*. Esta vía difiere muy poco de las anteriormente citadas y toma como punto de partida un hallazgo conceptual obtenido a través de un proyecto de investigación básica que inicialmente no se diseñó para la búsqueda de nuevas vías de tratamiento del cáncer. Tal sería, por ejemplo, el caso de los híbridos que, aunque originalmente se diseñaron para el estudio genético de la producción de inmunoglobulinas, han abierto la posibilidad de utilizar anticuerpos monoclonales como posibles agentes antineoplásicos.

El proceso de *desarrollo* de los productos que han mostrado actividad antitumoral difiere poco del que se sigue en otros campos de la farmacología preclínica, en los que se pretende optimizar y garantizar la seguridad del uso clínico del fármaco. Para ello se requiere toda una serie de estudios encaminados a mejorar la formulación del producto, establecer dosis y pautas de administración adecuadas, valoración de la farmacocinética y metabolismo del fármaco. Los estudios de farmacología preclínica además deben aportar datos acerca de las vías de excreción o aclaramiento de metabolitos que puedan plantear una contraindicación en pacientes que presenten alguna disfunción orgánica específica. Aunque por el momento no existen modelos animales suficientemente representa-

tivos de las distintas formas de cáncer en humanos y el valor terapéutico de los nuevos productos se demostrará en su uso clínico posterior, los estudios de farmacología preclínica son fundamentales para la realización segura de los ensayos clínicos posteriores^{3,5}.

Nuevas tendencias en la identificación de fármacos antineoplásicos

En estos momentos, parece existir un consenso general en cuanto a las dos prioridades de búsqueda de nuevos agentes. Por una parte, se pretende conseguir productos más efectivos sobre tumores sólidos y, por otra, la identificación de agentes que ejerzan su acción sobre «blancos» específicos de la célula tumoral.

En los últimos años se ha producido un verdadero avance en el conocimiento de los cambios moleculares implicados en la proliferación y transformación maligna celular. El papel funcional de oncogenes y genes supresores de tumor se conoce con mayor claridad, y también los mecanismos por los cuales las proteínas productos de esos genes transmiten las señales moleculares en las células tumorales. Se han identificado oncogenes que codifican la síntesis de factores de crecimiento, de receptores de los factores de crecimiento, de proteínas implicadas en la transducción de señales membrana-núcleo y de otros factores de transcripción. Todo ello hace que la búsqueda de nuevos fármacos se haya hecho más amplia y precisa en cuanto a tratar de interferir con «blancos» celulares que median en todos esos procesos. Se están utilizando distintas vías de abordaje y existen ya resultados preliminares que parecen muy positivos, tanto en cuanto a los nuevos agentes identificados, que ya han entrado en ensayos clínicos, como para abrir cauces de síntesis de nuevos compuestos y nuevas vías de acción terapéutica.

Búsqueda de agentes que interfieran la transducción de señales

En este campo se están intentando 2 vías de abordaje, una encaminada a interferir la acción de proteínas transductoras de señales y otra que pretende modificar y/o inactivar los genes que las codifican.

Modificación de factores de crecimiento. Los conocimientos adquiridos acerca de la implicación de factores de crecimiento en la proliferación de células tumorales y la comprensión del papel que productos de oncogenes desempe-

ñan en la alteración de la cascada de señales en las células transformadas, permiten un diseño racional de la búsqueda de agentes capaces de inhibirlos. Una aproximación prometedora en este sentido es la síntesis de antagonistas de factores autocrinos de crecimiento capaces de inhibir su interacción con los receptores de membrana y/o modificar su fijación a la matriz extracelular. Se ha comprobado, por ejemplo, que complejos de suramina con FGF y PDGF^{1,2} inhiben la fijación de los ligandos a sus respectivos receptores de membrana y resultados preliminares indican que, aunque tóxicos, estos productos muestran mayor selectividad de acción sobre tumores de próstata y ovario.

Inhibidores de proteincinasas. Puesto que se ha demostrado que varios oncogenes codifican productos con actividad proteincinasa (*erb-B2*, *src* y *raf-1* entre otros) y que las células transformadas muestran, en general, mayor capacidad de fosforilación de proteínas que las células normales, otra vía de aproximación es la búsqueda de inhibidores de proteincinasas. Actualmente se han identificado varios productos naturales capaces de inhibir tirosincinasas y algunos de ellos han entrado ya en ensayos clínicos preliminares. Tal es el caso de los derivados de la erbstatina que inhiben competitivamente este tipo de enzimas¹³ mostrando mayor especificidad de acción sobre el receptor del EGF y sobre las tirosincinasas de los oncogenes *bcr-abl* y *src*. Los derivados de flavonas parecen inhibir selectivamente las cinasas *cdc*, íntimamente implicadas junto con las ciclinas en la regulación del ciclo celular^{14,15}. Otros estudios han conducido a la identificación de estaurosporinas¹⁶, bryostatina I¹⁷ como inhibidores de proteincinasa C y de algunos éter-lípidos que inhiben también la fosfolipasa C¹⁸.

Inhibidores postranscripcionales. En este campo, el interés se ha centrado en la búsqueda de inhibidores específicos de la farnesilación de determinadas oncoproteínas. Así, limonene¹⁹, inhibe la farnesilación de la oncoproteína *ras* y, por tanto, de su procesado postranslacional que resulta esencial para su localización en membrana plasmática.

Identificación de agentes que utilicen genes mutados como «blancos» de interacción

En este campo merecen especial mención las investigaciones que se realizan con *oligonucleótidos* interactivos con secuencias específicas de DNA (antigén) y RNAm (antisentido)²⁰ y que

podrían ser efectivos tanto para reducir la sobreexpresión de determinados protooncogenes como para aumentar la expresión de genes supresores de tumores. Se ha demostrado la inhibición específica de oncogenes y crecimiento de células tumorales con oligonucleótidos antisentido del oncogén *H-ras* en cáncer de vejiga urinaria, pero la mayor dificultad en el desarrollo de estos oligonucleótidos reside en conseguir su incorporación *in vivo* en células tumorales.

Otra vía de aproximación en la síntesis de compuestos que dañen específicamente determinados genes, mediante su fijación sobre secuencias específicas del DNA. En este campo se están estudiando nuevos agentes *alquilantes* capaces de reconocer secuencias selectivas de DNA²¹, siendo especialmente prometedores los que se fijan selectivamente sobre adenina ³N.

Desarrollo de éter-lípidos antitumorales

La posibilidad de utilizar los lípidos de membrana para la inducción de cambios biofísicos que modifiquen el flujo de iones y alteren la acción de proteínas de membrana es otro de los campos de interés actual para el desarrollo de nuevos fármacos. En este sentido, distintos tipos de éter-lípidos están en fases muy avanzadas de ensayos clínicos y parecen activos tanto por modificar la fosfolipasa C como por inducir cambios en las propiedades de paso de distintos agentes antineoplásicos a través de la membrana plasmática, por lo que podrían ser útiles en la reversión de resistencias adquiridas como consecuencia del déficit de incorporación de los productos originalmente activos.

Hipoxia

Partiendo del hecho de que muchos tumores sólidos desarrollan hipoxia fisiológica en mayor extensión que los tejidos normales en estos momentos se está explorando la posibilidad de utilizar fármacos que puedan ser activados selectivamente por enzimas expresadas en células que crecen en estas condiciones²². Tal sería el caso de algunos tumores sólidos, cuyas células muestran mayor actividad DT-diaforasa que las células de tejidos normales. En estos momentos se están obteniendo resultados prometedores con el agente alquilante EO9-indoloquinona²³, con dos di-N-óxido de benzotriazina²⁴ y con el nitroimidazol RB, derivado de la aziridina²⁵.

Síntesis de análogos de principios activos ya identificados

Son numerosos los esfuerzos realizados para la obtención de análogos más activos y/o menos tóxicos de fármacos ya conocidos. Dignos de destacar son los derivados de antraciclinas modificadas por morfolinil-sustituciones, que sufren activación metabólica y se muestran activas sobre células resistentes a otras antraciclinas²⁶, y análogos de antifolatos y del cisplatino diseñados para superar las resistencias adquiridas a los productos de origen. Otras vías de acción se centran en la síntesis y evaluación de derivados del taxol, antimetabólico que actúa promoviendo la polimerización anormal de microtúbulos²⁷, el diseño de nuevos agentes antiendocrinos y modificaciones de las moléculas de distintos fármacos para mejorar su acción farmacológica y disminuir su toxicidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Heppner GH, Miller BE. Therapeutic implications of tumor heterogeneity. *Sem Oncol* 1989; 16: 91-105.
2. Frei III E. The National Cancer Chemotherapy Program. *Science* 1982; 217: 600-606.
3. Phillips RM, Bibby MC, Double JA. A critical appraisal of the predictive value of *in vitro* chemosensitivity assays. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 57-68.
4. Weisenthal LM. Antineoplastic drug screening belongs to the laboratory, not in the clinic. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 466-469.
5. Cosolo WC, Christophidis N. An example of the role of the animal model in investigating new techniques. *Eur J Cancer* 1989; 25: 1.511-1.512.
6. Skipper HE. The effects of chemotherapy on the kinetics of leukemic cell behavior. *Cancer Res* 1965; 25: 1.544-1.550.
7. Bissery MC, Chabot GG. Historique et récents développements des méthodes de criblage et d'évaluation des molécules anticancéreuses *in vitro* et *in vivo*. *Bull Cancer* 1991; 78: 587-602.
8. Corbett TH, Valeriote FA, Baker LH. Is the P388 urine tumor no longer adequate as a drug discovery model? *Invest New Drugs* 1987; 5: 3-20.
9. Grever MR, Schepatz SA, Chabner BA. The National Cancer Institute: Cancer Drug Discovery and Development Program. *Sem Oncol* 1992; 19: 622-638.
10. Weinstein JN, Kohn KV, Grever MR et al. Neural computing in cancer drug development: predicting mechanism of action. *Science* 1992; 258: 447-451.
11. Schwartzmann G, Workman P. Anticancer Drug Screening and Discovery in the 1990s: A European Perspective. *Eur J Cancer* 1992; 29A: 3-14.

12. Stein CA, LaRocca R, McAtee N, Myers CE. Suramin: An anticancer drug with a unique mechanism of action. *J Clin Oncol* 1989; 7: 499-508.
13. Levitzki A, Gilon C. Tyroostins as molecular tools and potential antiproliferative drugs. *Trends Pharm Sci* 1991; 12: 171-174.
14. D-Urso G, Marraccino RL, Marshak DR, Roberts JM. Cell cycle control of DNA replication by a homologue from human cells of the p34^{cdc2} protein kinase. *Science* 1990; 250: 786-791.
15. Sausville EA, Kaur G, Seynaeve C, Worland P. Tyrosin kinases as a target for chemotherapy. *Ann Oncol* 1992; 3 Supl 1: 62.
16. Tamaoki T, Nakano H. Potent and specific inhibitors of protein kinase C of microbial origin. *Biotechnology* 1990; 8: 732-735.
17. Rea D, Prendeville J, Harris AL et al. A phase I study of bryostatin I a protein kinase C partial agonist. *Ann Oncol* 1992; 3 supl 1: 62.
18. Berdel W. Antitumor ether lipids. Membrane-interacting lipids as experimental anticancer drugs. *Br J Cancer* 1991; 64: 208-211.
19. Crowell PL. Selective inhibition of isoprenylation of 21-26 KDa proteins by anticarcinogen α -limonene and its metabolites. *J Biol Chem* 1991; 266: 17.679-17.685.
20. Helene C, Toulme JJ. Specific regulation of gene expression by antisense, sense and antigene nucleic acids. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1049: 99-125.
21. Nicolaou ICC, Dai W-M, Tsay S-C, Estevez VA, Wrasidlo W. Designec enedynes: A new class of DNA-cleaving molecules with potent and selective anticancer activity. *Science* 1992; 256: 1.172-1.178.
22. Workman P. Bioreductive mechanisms. *Int J Radat Oncol Biol Phys* 1992; 22: 631-637.
23. Walton MI, Bibby MC, Double JA, Plumb JA, Workman P. DT-Diaphorase activity correlates with sensitivity to the indoloquinone EO9 in mouse and human colon carcinomas. *Eur J Cancer* 1992; 28A: 1.597-1.600.
24. Zeman EM, Brown JM, Lemmon MJ, Hirst VK, Lee WW. SR 4233: A new bioreductive agent with high selective toxicity for hypoxic mammalian cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1986; 12: 1.239-1.242.
25. Jenkins TC, Naylor MA, O'Neill P et al. Synthesis and evaluation of 1-(3-(2-haloethylamino)propyl)-2-nitromidazoles as prodrugs of RSU 1069 and its analogs which are radiosensitizers and bioreductively activated cytotoxins. *J Med Chem* 1990; 33: 2.603-2.610.
26. Ripamonti M, Pezzoni G, Pesenti E et al. In vivo antitumor activity of FCE 23762, a methoxymorpholinyl derivative of doxorubicin active on doxorubicin-resistant tumour cells. *Br J Cancer* 1992; 65: 703-707.
27. Lavelle F, Fizames C, Gueritte-Voegelein F, Guenard D, Potier P. Experimental properties of RP 56976, a taxol derivative. *Invest New Drugs* 1989; 7: 446.

DISCUSIÓN

A. FABRA: El modelo que usted ha presentado se refiere básicamente a tumores sólidos pero no contempla los posibles efectos sobre la capacidad invasiva o la capacidad de metastatizar del tumor. Creo que estos aspectos son extraordinariamente importantes y deberían considerarse de alguna manera.

M.P. RIVERA: Estoy totalmente de acuerdo. Sin embargo, me parece importante insistir en algo que he pretendido destacar a lo largo de mi exposición, y es en la necesidad de adecuar la selección del modelo de estudio al tipo de fármacos que se pretende identificar. El modelo que he descrito con más detalle es el planteado por el National Cancer Institute para el rastreo al azar de nuevas moléculas con acción selectiva sobre tumores sólidos refractarios a la acción de los fármacos actualmente disponibles. En mi opinión, la evaluación concreta de moléculas capaces de interferir con la capacidad invasiva y metastatizante de las células tumorales requiere el uso de modelos experimentales *in vivo* en los que se puedan medir las interacciones entre las células tumorales y el tejido u órgano en el que se desarrollen.

J. LEÓN: Me pregunto si existe algún programa de *detección* sistemático donde se evalúe exclusivamente la diferenciación, ya que éste podría ser un nuevo e interesante enfoque en la farmacología del cáncer.

M. DÓMINE: En la actualidad existe un programa de detección de nuevos fármacos que actúan sobre la diferenciación en el National Cancer Institute.

J. LEÓN: Quisiera comentar en este contexto que el ácido retinoico se está utilizando para la leucemia promielocítica, fundamentalmente en la M3, aunque por sí solo no es curativo en esta enfermedad, y debe asociarse en casi todos los pacientes con un tratamiento citotóxico antiproliferativo.

M.P. RIVERA: Los mayores avances alcanzados hasta el momento en el tratamiento de distintos tipos de tumores malignos se han conseguido precisamente utilizando una quimioterapia combinada, ya que permite ejercer una acción más selectiva sobre poblaciones celulares del tumor que presenten cinéticas de proliferación y metástasis distintas.