

---

# Resistencia a la quimioterapia: mecanismos y vías de modulación

---

A. Cervantes

Servicio de Hematología y Oncología Médica, Hospital Clínico Universitario, Valencia.

## Introducción

A pesar de haber experimentado un progreso notable en las últimas décadas, el tratamiento farmacológico del cáncer dista de ser óptimo. El empleo de combinaciones de fármacos ha posibilitado la curación de varios tumores, como la leucemia aguda linfóide, la enfermedad de Hodgkin, los linfomas no hodgkinianos, el cáncer de testículo y algunos tumores pediátricos, incluso en la presencia de enfermedad diseminada. Pero, por desgracia, el éxito en el tratamiento de estas neoplasias no ha podido trasladarse a otras neoplasias de mayor incidencia. La mayoría de los pacientes recaerán después de un tratamiento inicial y la progresión de la enfermedad provocará la muerte.

## Tipos de resistencia

El fracaso de la quimioterapia en el tratamiento del cáncer se debe sobre todo al desarrollo de resistencia a los fármacos. Por tanto, el estudio de los mecanismos de resistencia a la quimioterapia es un objetivo primordial de investigación en oncología. Tal resistencia puede ser *intrínseca*, cuando los tumores nunca responden a la quimioterapia y el tratamiento no tiene ningún efecto sobre el curso de la enfermedad. Pero en otras ocasiones la resistencia es *adquirida*, en cuyo caso después de una respuesta objetiva tras el empleo de los fármacos antineoplásicos, emerge una clona celular resistente, que provoca un recrecimiento del tumor que no puede ser controlado por fármacos. La experiencia clínica nos indica que en tumores quimiosensibles, como los carcinomas de mama, ovario y microcítico bronquial, las recaídas tras una remisión inicial a veces completa, son comunes y dan lugar al crecimiento de tumores resistentes con una forma evolutiva de mayor agresividad que el tumor inicial.

## Mecanismos de resistencia

El desarrollo de resistencia a la quimioterapia en pacientes con cáncer es multicausal, y en su origen pueden intervenir factores farmacológicos o celulares. La distribución de los fármacos en el organismo, su catabolismo o su activación, o la presencia de barreras fisiológicas, como la ubicación del tumor en el sistema nervioso central, limitarán la biodisponibilidad del fármaco citotóxico frente al tumor. Este tipo de resistencia, también conocido como *resistencia farmacológica*, puede ser modulado al modificar la vía de administración, la dosis o el esquema de administración de los fármacos. Ejemplos de esto son la administración intraarterial regional de quimioterapia, el empleo de fármacos en perfusión continua o el uso de altas dosis de quimioterapia con rescate mediante trasplante autólogo de médula ósea. De este modo, se produce un aumento de la concentración del fármaco en la localización del tumor o puede prolongarse la duración de la exposición<sup>1</sup>.

No obstante, a pesar de lograr altas concentraciones extracelulares de los fármacos, puede aparecer un tipo de resistencia, independiente de factores farmacológicos y conocida como *resistencia celular*. El estudio de líneas celulares ha permitido investigar los mecanismos de resistencia celular para distintos tipos de compuestos antineoplásicos. Las células neoplásicas se caracterizan por una inestabilidad genética, que induce mutaciones espontáneas y que pueden ser responsables del desarrollo de resistencia a la quimioterapia.

Goldie y Coldman han presentado un modelo matemático basado en los modelos de resistencia de las bacterias a los antibióticos, que asume la selección de células resistentes con alteraciones genéticas estables como causa principal del fracaso terapéutico en oncología<sup>2</sup>. La frecuencia de estas mutaciones capaces de

TABLA I  
MECANISMOS CELULARES DE  
RESISTENCIA A LA QUIMIOTERAPIA

Disminución de la acumulación intracelular
Disminución de la captación
Aumento de la excreción activa al medio extracelular
Alteración del metabolismo intracelular
Disminución de la activación
Aumento del catabolismo
Alteración de la distribución intracelular
Modificaciones cuantitativas de las moléculas diana
Disminución o alteración de la topoisomerasa II
Aumento de la capacidad reparadora del DNA

producir diferentes productos implicados en el desarrollo de resistencias dependerá tanto del número de células tumorales, como de la frecuencia de mutaciones espontáneas. En el ámbito práctico se derivan dos consecuencias de esta hipótesis. La primera se refiere al uso de poliquimioterapia, ya que la selección de células resistentes a más de un fármaco sería menos probable. La segunda justifica el tratamiento de los tumores en su estadio más precoz, cuando el número de células tumorales es menor, puesto que las posibilidades de selección de células resistentes son menores con un volumen tumoral mínimo.

Se han descrito varios mecanismos celulares de resistencia a la quimioterapia (tabla I). Cambios diversos en la membrana citoplasmática pueden disminuir la acumulación intracelular de fármacos, ya sea mediante una disminución de su captación o bien a través de un aumento de su excreción al medio extracelular. Por ejemplo, el metotrexato requiere para su acumulación intracelular la participación de un sistema transportador, que cuando se altera da lugar a resistencias por disminución de la captación del fármaco<sup>3</sup>. Por otra parte, un aumento de la secreción extracelular de distintos fármacos, mediada por la expresión aumentada de la glucoproteína GP-170, constituye el mecanismo básico del fenómeno conocido como resistencia a múltiples fármacos<sup>4</sup>. Una alteración en el metabolismo celular de un compuesto puede ser causa de resistencia, ya sea por una disminución de su conversión al producto activo, como es el caso del Ara-C que requiere para su acción citotóxica su transformación en Ara-

CTP, o mediante un catabolismo aumentado por los sistemas de detoxificación<sup>5</sup>. Tal es el caso de la resistencia a las antraciclinas o a los agentes alquilantes mediada por un mayor contenido y actividad del sistema del glutatión.

En ocasiones una alteración de la distribución intracelular de los fármacos, con un acceso reducido al núcleo celular y, por tanto, al DNA, que es su diana de acción en muchos casos, podría contribuir al desarrollo de resistencia en el modelo de resistencia a múltiples fármacos<sup>6</sup>. Cambios cuantitativos o cualitativos de las moléculas diana de determinados fármacos pueden también resultar en el fracaso de la acción citotóxica de los mismos. Este es el mecanismo desarrollado por algunas líneas celulares resistentes a metotrexato o 5-fluorouracilo, en las que existen mutaciones o aumento de la expresión de las enzimas diana de estos antimetabolitos, dihidrofolico reductasa y timidilato sintetasa, respectivamente<sup>7,8</sup>. La disminución o mutaciones de la enzima topoisomerasa II también se han implicado en el desarrollo de resistencia a las antraciclinas y a los epipodofilinos VP-16 y VM-26<sup>9</sup>. Por último, el incremento de la actividad reparadora de las lesiones del DNA, inducidas sobre todo por agentes alquilantes, es otro mecanismo bien conocido de resistencia a la quimioterapia<sup>10</sup>.

Aunque cualquiera de estos mecanismos puede explicar por sí solo el desarrollo de resistencia a la quimioterapia, se acepta que es una combinación de varios mecanismos, la responsable del fenómeno de resistencia. Así pues, en una sola célula pueden existir varios mecanismos responsables de la resistencia a cada uno de los diferentes tipos de fármacos antineoplásicos y, por otra parte, un solo mecanismo puede en ocasiones conferir un fenotipo de resistencia cruzada a distintos fármacos sin relación estructural o en su mecanismo de acción.

### Resistencia a múltiples fármacos

El fenómeno de resistencia a múltiples fármacos MDR describe la expresión simultánea de resistencia cruzada a un amplio espectro de compuestos que no tienen ninguna analogía estructural ni en su modo de acción<sup>11</sup>. La expresión aumentada de una glucoproteína de un peso molecular de 170 kD (GP-170) en las membranas celulares es la responsable del fenómeno MDR. Los fármacos involucrados en este modelo van desde productos naturales como las antraciclinas, alcaloides de la vinca, mitomicina C, antinomicina D, derivados de las

podofilotoxinas y taxol, a productos sintéticos como mitoxantrona o trimetrexato. Inicialmente, células seleccionadas para desarrollar resistencia, mediante su cultivo en concentraciones subtóxicas de vincristina, presentaban un amplio espectro de resistencia frente a un número notable de otros compuestos no relacionados con los alcaloides de la vinca. Esta observación *in vitro* tiene su correlato clínico. Pacientes con recaídas de tumores previamente tratados son, en general, más difíciles de controlar, incluso utilizando fármacos de diferente estructura y mecanismo de acción.

La molécula de GP-170 está codificada por el gen *mdr1* y forma parte de una familia de transportadores, que se halla extensamente distribuida en la naturaleza, con capacidad para transportar un amplio conjunto de sustancias. Esta bomba de transporte tiene un componente intracelular, otro intramembrana y uno exterior o extracelular. El primero de ellos es capaz de ligar los compuestos que serán excretados, así como de unirse a las moléculas de ATP que serán consumidas durante ese proceso. La expresión de GP-170 no es exclusiva de las células multirresistentes, sino que aparece también en tejidos normales, como el túbulo proximal renal, la corteza suprarrenal, el polo biliar de los hepatocitos, las células de la mucosa cólica, las de la barrera hematoencefálica, etc.<sup>12,13</sup>. Por el momento, el sustrato natural y la función normal de la GP-170 no son desconocidos. Sin embargo, en las células neoplásicas se encargan de una secreción activa de fármacos al medio extracelular, con consumo de energía y la consiguiente reducción de la concentración intracelular de éstos, que no pueden ejercer su acción citotóxica.

Se han desarrollado varios métodos a fin de detectar la GP-170 en muestras de tumores humanos. La mayoría de ellos se basan en el análisis del RNAm o de la propia glucoproteína, mediante el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos frente a los distintos epítomos de la GP-170<sup>14,15</sup>. De este modo, se ha detectado expresión de este marcador de resistencia en muestras de pacientes con leucemias agudas<sup>16</sup>, mieloma múltiple<sup>17</sup>, rhabdomyosarcomas<sup>18</sup>, cáncer de ovario<sup>19</sup>, mama, pulmón y otros<sup>20</sup>. Se debe resaltar la observación que relaciona al fenómeno de resistencia intrínseca a la quimioterapia con aquellos tumores originados en órganos, cuyas células normales ya expresan la GP-170. El carcinoma de colon, el hepatocarcinoma y el hipernefroma son tumores intrínsecamente quimiorresistentes, a diferencia de los

TABLA II  
COMPUESTOS MODULADORES  
DEL FENOTIPO MDR

Antagonistas del calcio
Verapamilo
Bepiridilo
Tiapamilo
Inhibidores de la calmodulina
Trifluoperazina
Antipalúdicos
Quinina
Quinidina
Inmunosupresores
Ciclosporina A
Compuestos relacionados con hormonas esteroides
Progesterona y derivados
Tamoxifeno
Toremifeno
Productos biológicos
Factor de necrosis tumoral
Detergentes
Aceite de cremofor

linfomas o mielomas, que expresan la GP-170 sólo después de haber recibido quimioterapia. Así pues, en estos casos la resistencia se adquiere tras la exposición a los fármacos y después de una quimiosensibilidad inicial.

### Modulación del fenómeno MDR

Uno de los aspectos más interesantes del fenotipo *mdr* consiste en la posibilidad de reversión de la resistencia con el uso de una variedad de agentes modificadores o moduladores (tabla II). Tales compuestos poseen una mayor afinidad por la bomba de transporte que los fármacos antineoplásicos, compitiendo con ellos y desplazándolos de los lugares de unión a la GP-170, e impidiendo de algún modo su excreción al medio extracelular, por lo que indirectamente permite unas concentraciones intracelulares de fármacos por encima del nivel crítico para ejercer su acción citotóxica<sup>6</sup>. Desde una serie de observaciones iniciales, en las que el bloqueador del calcio verapamilo era capaz de bloquear la función de la GP-170 y revertir la resistencia en células de leucemia murina, el uso de compuestos sensibilizantes ha suscitado numerosos estudios clínicos y de laboratorio.

Varios estudios clínicos han confirmado la utilidad de algunos moduladores para revertir el fenotipo resistente. Por ejemplo, la trifluoperazi-

na fue capaz de inducir segundas respuestas a la adriamicina en sujetos con tumores en progresión después de un tratamiento inicial con el mismo fármaco<sup>21</sup>. El verapamilo también se ha mostrado eficaz para reinducir respuestas en pacientes con linfomas y mielomas que habían progresado tras un tratamiento inicial. En el subgrupo de pacientes con mieloma que expresaban PG-170, 4 de 10 respondieron al tratamiento; sin embargo, ninguno de los PG-170 negativos se beneficiaron de tal abordaje<sup>22</sup>. La toxicidad limitante de dosis del empleo de dosis altas de verapamilo es, sobre todo, cardiovascular. Se apreciaron hipotensión y bloqueos auriculoventriculares que requirieron en ocasiones la implantación de marcapasos, por lo que es necesaria una investigación más amplia, que permita definir nuevos agentes quimiosensibilizantes con más eficacia y menor toxicidad<sup>23</sup>.

Otros estudios han utilizado la ciclosporina A como quimiosensibilizante con una cierta actividad en mieloma resistente, con un 58% de respuestas en 24 pacientes y sin toxicidad limitante cardíaca o renal<sup>24</sup>. La adición de ciclosporina A a un esquema de daunorubicina y arabinósido de citosina en leucemias agudas mieloides de alto riesgo con expresión de GP-170 indujo un porcentaje de remisiones completas del 62%<sup>25</sup>. Este trabajo ha realizado algunas observaciones de interés: a) la aparición de hiperbilirubinemia como efecto secundario frecuente, debida a la mayor afinidad de la ciclosporina por la bomba de transporte del polo biliar hepático con respecto a la bilirrubina. De algún modo, los pacientes con hiperbilirubinemia son aquellos en los que la GP-170 ha sido saturada a nivel biliar y quizá también a otros niveles y, por tanto, los fármacos antineoplásicos ejercerán mejor su acción citotóxica; b) la desaparición del fenotipo MDR en las células blásticas de los pacientes en el momento de la recaída, a pesar de su presencia en el momento inicial, sugiere que tras eliminar al fenómeno *mdr* otros mecanismos pueden ser responsables de la aparición de resistencias, y c) la interacción entre la daunorubicina y la ciclosporina no sólo tiene lugar en la GP-170, sino que también se produce farmacocinéticamente, incrementándose de modo significativo las concentraciones plasmáticas de daunorubicina.

Los efectos de la ciclosporina observados en el trabajo anterior han podido reproducirse parcialmente cuando ésta se combina con VP-16<sup>26,27</sup>, tanto en la producción de hiperbilirubinemia como en el incremento significativo de todos los parámetros farmacocinéticos que ex-

presan una mayor exposición del tumor al fármaco. Estos ensayos plantean una serie de precauciones que deben tenerse en cuenta de cara a la investigación de los agentes quimiosensibilizantes en ensayos clínicos<sup>28</sup>. Los tumores tratados en estos ensayos deberían expresar GP-170, ya sea de forma intrínseca o de forma adquirida, ya que de otra forma no existe un beneficio claro en el uso de moduladores del fenómeno *mdr*. El estudio de la expresión de la GP-170 debe formar parte de estos ensayos clínicos, tanto en el momento de iniciarse el tratamiento como al aparecer la recaída. La selección del compuesto modulador de la resistencia debe hacerse a partir de criterios de actividad en modelos experimentales, teniendo en cuenta si las concentraciones necesarias *in vitro* pueden alcanzarse en el plasma del paciente. La frecuente interacción farmacocinética entre agentes moduladores y quimioterápicos justifica un análisis farmacocinético de ambos compuestos que permita una valoración precisa de los efectos observados. En la actualidad un análogo de la ciclosporina, conocido como PSC-833, pero sin capacidad inmunosupresora, está siendo estudiado en ensayos fase I<sup>29</sup>. Si los ensayos de fases I y II muestran una eficacia notable sin una toxicidad limitante, deberán diseñarse estudios de fase III, antes del empleo rutinario de estos agentes en el tratamiento de los tumores quimiorresistentes.

### Modulación de otros mecanismos de resistencia

Cuando la resistencia a la quimioterapia se ha estudiado en profundidad, resulta obvio que existen múltiples mecanismos subyacentes que resultan en distintos fenotipos resistentes, de ahí que también se haya intentado sobrepasar la resistencia a la quimioterapia a partir de diversas estrategias de modulación. La resistencia celular a los agentes alquilantes o a productos con capacidad de producir radicales libres como mediadores de su efecto citotóxico, se ha relacionado con un aumento del contenido intracelular de glutatión y de la actividad del sistema enzimático de glutatión transferasa<sup>30,31</sup>. Estrategias para modular este mecanismo y vencer la resistencia consisten en la depleción del glutatión intracelular o en la inhibición de la glutatión transferasa.

La butionina sulfoxamina (BSO) es capaz de inhibir la síntesis de glutatión y, de este modo, aumenta la actividad antitumoral de fármacos como melfalán y cisplatino e incluso de la ra-

dioterapia en modelos experimentales de cáncer de ovario. Cuando BSO se administra por vía oral a un ratón atímico portador de un cáncer de ovario, se reduce el contenido de glutatión de las células neoplásicas en un 90% y además se prolonga la supervivencia de los animales tratados con melfalán cuando se compara con los tratados sólo con melfalán sin BSO<sup>32</sup>. Estudios de fase I han mostrado una toxicidad tolerable y ya se ha iniciado un ensayo de fase II. Otro abordaje destinado a la inhibición de la glutatión transferasa consiste en el empleo del ácido etacrínico<sup>33</sup>.

La inhibición de la actividad reparadora del DNA es otro abordaje lógico de cara a revertir la resistencia frente a cisplatino. La afidicolina es un inhibidor de las DNA-polimerasas alfa y gamma, que bloquea la capacidad reparadora del DNA en células resistentes a cisplatino, haciéndolas sensibles. Sin embargo, estudios clínicos con esta estrategia están aún en su fase inicial.

### Conclusión

El problema de la resistencia a la quimioterapia es complejo, y sus mecanismos dependerán tanto de los tumores tratados como de los fármacos empleados en su tratamiento. No todos los mecanismos de resistencia descritos para cada fármaco deben estar presentes en cada tipo tumoral. Por ejemplo, para la adriamicina se han descrito al menos dos mecanismos de resistencia: uno está en relación con la disminución de la acumulación intracelular mediada por la GP-170, y el otro con alteraciones de la topoisomerasa II. Así pues, si intentamos modular el fenotipo *mdr*, su efecto será mínimo sobre un tumor en el que el fenotipo resistente esté en función de alteraciones de la topoisomerasa II. Para plantear una modulación eficaz del fenotipo resistente, se deberían determinar en primer lugar los mecanismos que operan en un determinado tumor y en cada paciente concreto. Los estudios de laboratorio deben analizar e identificar los distintos mecanismos de resistencia y desarrollar marcadores específicos con utilidad diagnóstica. También es razonable hallar en un mismo tumor diversos mecanismos de resistencia, por lo que será preciso el empleo de una combinación de agentes moduladores necesarios para revertir el fenotipo resistente. Además, serán necesarios ensayos clínicos bien diseñados en los que se relacionen hallazgos del laboratorio con observaciones clínicas para determinar el valor

real de la modulación de la resistencia en el tratamiento del cáncer.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Dalton WS. Drug resistance modulation in the laboratory and the clinic. *Sem Oncol* 1993; 20: 64-69.
2. Goldie JH, Coldman AJ. Genetic instability in the development of drug resistance. *Sem Oncol* 1985; 12: 222-230.
3. Kessel D, Hall TC, Roberts D et al. Uptake as a determinant of methotrexate response in mouse leukemias. *Science* 1965; 150: 752-754.
4. Kartner N, Shales L, Riordan JR, Ling V. Daunorubicin-resistant chinese hamster ovary cells expressing multidrug resistance and a cell surface P-Glycoprotein. *Cancer Res* 1983; 43: 4.413-4.419.
5. Waxman DJ. Glutathione S-transferases: Role in alkylating agent resistance and possible target for modulation chemotherapy-A review. *Cancer Res* 1990; 50: 6.449-6.454.
6. Schuurhuis GJ, Broxterman HJ, Cervantes A, Pinedo HM, Lankelma J. Quantitative determination of factors contributing to doxorubicin resistance in two multidrug resistance cell lines. A study with resistance modifying agents. *J Natl Cancer Inst* 1989; 24: 1.887-1.892.
7. Thillet J, Absil J, Stone SR et al. Site-directed mutagenesis of mouse dihydrofolate reductase: Mutants with increased resistance to methotrexate and trimethoprim. *J Biol Chem* 1988; 263: 12.500-12.508.
8. Zhang ZG, Harstrick A, Rustum YM. Mechanisms of resistance to fluoropyrimidines. *Sem Oncol* 1992; 19 Supl 3: 4-9.
9. Danks MK, Schmidt CA, Cirtain MC et al. Altered catalytic activity of and DNA cleavage by DNA-topoisomerase II from human leukemic cells selected for resistance for VM-26. *Biochemistry* 1988; 27: 8.861-8.869.
10. Masuda H, Ozols R, Lai G et al. Increased DNA repair as a mechanism of acquired resistance to cis-diaminedichloroplatinum (II) in human ovarian cancer cell lines. *Cancer Res* 1988; 48: 5.713-5.716.
11. Cervantes A, Pinedo HM. Resistencia múltiple a fármacos: implicaciones clínicas de un fenómeno biológico. *Neoplasia* 1987; 4: 268-275.
12. Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ, Poplak DG, Gottesman MM, Pastan I. Expression of a multidrug resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 265-272.
13. Pastan I, Gottesman M. Multiple drug resistance in human cancer. *N Engl J Med* 1987; 316: 1.388-1.393.
14. Dalton WS, Grogan TM. Does P-glycoprotein predict response to chemotherapy, and if so, is there as reliable method to detect it? *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 80-81.

15. Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Boccia J et al. Expression of the multidrug resistance gene product (P-Glycoprotein) in human normal and tumor tissues. *J Histochem Cytochem* 1990; 38: 1.277-1.287.
16. Campos L, Guyotat D, Archimbaud E et al. Clinical significance of multidrug resistance P-glycoprotein expression on acute nonlymphoblastic leukemia cell at diagnosis. *Blood* 1992; 79: 473-476.
17. Epstein J, Xiao H, Oba B. P-Glycoprotein expression in plasma cell myeloma is associated with resistance to VAD. *Blood* 1989; 74: 913-917.
18. Chan HSL, Thorner PS, Haddad G, Ling V. Immunohistochemical detection of P-Glycoprotein: Prognostic correlation in soft tissue sarcomas of the childhood. *J Clin Oncol* 1990; 8: 689-704.
19. Bourhis J, Goldstein, Riou G et al. Expression of a human multidrug resistance gene in ovarian carcinomas. *Cancer Res* 1989; 49: 5.062-5.065.
20. van der Valk P, van Kalken CK, Ketelaars H et al. Distribution of multidrug resistance-associated P-Glycoprotein in normal and neoplastic human tissues. *Ann Oncol* 1990; 1: 54-64.
21. Miller RL, Bukowski RM, Budd T et al. Clinical Modulation of Doxorubicin resistance by the calmodulin inhibitor, trifluoperazine: A phase I/II trial. *J Clin Oncol* 1988; 6: 880-888.
22. Dalton WS, Grogan TM, Durie BGM et al. Drug resistance in multiple myeloma and non-Hodgkin lymphoma: Detection of P-Glycoprotein and potential circumvention by addition of verapamil to chemotherapy. *J Clin Oncol* 1989; 7: 415-424.
23. Pennock GD, Dalton WS, Roeske WR et al. Systemic toxic effects associated with high dose verapamil infusion and chemotherapy administration. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 105-110.
24. Sonneveld P, Durie BGM, Lockhorst HM et al. Modulation of multidrug-resistant multiple myeloma by cyclosporin. *Lancet* 1992; 340: 255-259.
25. List AF, Spier C, Greer J et al. Biochemical modulation of anthracycline resistance in acute leukemia with cyclosporin-A. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1992; 11: 264.
26. Lum BL, Kaubisch S, Yahanda AM et al. Alteration of etoposide pharmacokinetics and pharmacodynamics by cyclosporin A. A phase I trial to modulate multidrug resistance. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1.635-1.640.
27. Yahanda AM, Adler KM, Fisher GA et al. A phase I trial of etoposide with cyclosporin A as a modulator of multidrug resistance. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1.624-1.629.
28. Gottesman MM, Pastan I. Clinical trials of agents that reverse multidrug resistance. *J Clin Oncol* 1989; 7: 409-410.
29. Twentyman PR. MDR1 (P-glycoprotein) gene expression-Implications for resistance modifier trials. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1.458-1.460.
30. Batist G, Tulpule A, Sinha BK et al. Overexpression of a novel anionic glutathione transferase in multidrug resistant human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1986; 261: 15.544-15.549.
31. Cervantes A, Pinedo HM, Lankelma J, Schuurhuis GJ. The role of free radicals on Doxorubicin induced cell growth inhibition in human ovarian cancer cells. *Cancer Letters* 1988; 41: 169-177.
32. Ozols R, Louie K, Plowman J et al. Enhanced melphalan cytotoxicity in human ovarian cancer in vitro and in tumor-bearing nude mice by buthioine sulfoximine mediated depletion of glutathione. *Biochemical Pharmacol* 1987; 36: 147-153.
33. Tew K, Bomber A, Hoffman S. Ethacrynic acid and piripost as enhancers of cytotoxicity in drug resistant and sensitive cell lines. *Cancer Res* 1988; 48: 362-365.

## DISCUSIÓN

J.C. LACAL: Hallazgos recientes parecen indicar que el gen de resistencia de MDR se expresa casi en todos los tipos y que posiblemente se trata de un canal de cloro. ¿Tiene usted más información sobre cómo se activa la función expulsora del fármaco o cuál puede ser el mecanismo de activación del MDR?

A. CERVANTES: Lo que usted ha comentado de los canales del cloro parece una explicación razonable, sin embargo según mi información el mecanismo de activación es por ahora desconocido.

P. RIVERA: El déficit de acumulación de fármaco que se comprueba en células que expresan en fenotipo de resistencia MDR no es sólo consecuencia de la activación de los mecanismos de eliminación del mismo por parte de las células resistentes, función que se atribuye

ya a la glucoproteína P codificada por el gen MDR. En algunos casos se ha relacionado con una pérdida de la capacidad de captación del producto por la célula resistente. Hemos establecido unos modelos de estudio de MDR en leucemia linfoblástica aguda y hemos podido comprobar que aunque todas las sublíneas celulares aisladas expresan la Pgp, en dos de ellas la reducción de la acumulación de fármaco debe atribuirse a una disminución de su incorporación en la célula y no a un aumento de su eliminación. En estas 2 sublíneas celulares hemos comprobado que la resistencia corre paralela al aumento del contenido de colesterol celular y hemos revertido la resistencia reduciendo las concentraciones de ese lípido. En estos momentos estamos valorando la posibilidad de que el colesterol de

- la membrana plasmática celular pudiera actuar como modulador de la función de la Pgp.
- A. CERVANTES: Efectivamente, la membrana lipídica celular interviene en el fenómeno de la resistencia, la aparición de la glucoproteína P es el único fenómeno, creo que existen sublíneas celulares que sin expresar la glucoproteína P tienen la capacidad de tener el fenotipo resistente, y lo más curioso es que este fenotipo resistente es capaz de ser inhibido por verapamilo. El grupo del Departamento de Neuroquímica de la Universidad de Alicante dispone de un modelo muy interesante donde el verapamilo es capaz de inducir modificaciones, no sólo en la cantidad de colesterol de la membrana, sino también de fosfolípidos.
- P. RIVERA: No cabe duda de que la liposolubilidad de los fármacos tiene un papel. Es llamativo que mientras que el metotrexato comparte este tipo de resistencias su análogo liposoluble trimetrexato sí las presenta.
- E. CAMPO: Existen algunas evidencias *in vitro* de que la P53 mutada se une al promotor de la glucoproteína P e incrementa su expresión; está todavía por ver si esto puede tener un papel en tumores humanos. Hemos investigado este aspecto en el carcinoma de colon, sin encontrar una relación entre la expresión de la proteína y la presencia de P53.
- O. MASSÓ: En estas líneas que son resistentes por expresión de la glucoproteína ¿se ha investigado si el bloqueo de esta expresión revierte el fenotipo y si las células recuperan su sensibilidad?
- A. CERVANTES: Efectivamente, se ha publicado un trabajo en leucemia aguda glucoproteína P positiva, donde después de obtener la remisión completa, cuando los pacientes recaen, las células que expresan la recaída ya no tienen el fenotipo MDR positivo, con lo que cabe suponer que ha sido la adición de ciclosporina lo que ha facilitado la eliminación de este fenómeno. Esta es la única observación que conozco en este sentido, pero tiene un gran interés, porque probablemente indica que los mecanismos de resistencia de esa segunda recaída son distintos de la inicial.
- J. LEÓN: Sólo quería comentar que también se ha descrito que RAS activa la expresión de MDR, aunque el mecanismo no está claro.
- M. MUÑOZ: ¿Cuál cree que es el (los) fármaco(s) más prometedor(es) en clínica para revertir la resistencia a agentes quimioterápicos?
- A. CERVANTES: En el momento actual hay dificultades con todos los fármacos. Quería comentar un aspecto interesante de la ciclosporina y es que este agente compite por los fármacos, no sólo en la glucoproteína P y en la célula tumoral sino también en el polo biliar. Se ha observado que la ciclosporina es capaz de producir una hiperbilirrubinemia a través de una especie de bloqueo por competición del fármaco activo con la bilirrubina, de modo que la aparición de hiperbilirrubinemia se ha asociado con la reversión del fenotipo resistente en pacientes. De todas maneras, la ciclosporina tiene una gran actividad inmunosupresora y por lo tanto aumenta también la toxicidad hematológica. En la actualidad se está desarrollando un ensayo de fase I tanto en los Países Bajos como en Francia y en Inglaterra, con un derivado de la ciclosporina denominado PSC38, que es un compuesto análogo pero sin efecto inmunosupresor, y que se ha desarrollado con la intención específica de ser un compuesto modulador de la resistencia.
- F. LLUÍS: En cuanto a la acción de múltiples fármacos con acciones muy diversas, como pueden ser propranolol o verapamilo, ¿no sería conveniente poder diferenciar claramente si se trata de un efecto directo sobre el mecanismo al que se atribuye la resistencia, o bien está mediado por una de las acciones específicas, por ejemplo, sobre el calcio?
- A. CERVANTES: La característica común es que todos estos fármacos tienen una afinidad por la glucoproteína que actúa como bomba de transporte mayor que la de los fármacos antitumorales.
- F. LLUÍS: Al mismo tiempo tienen otras acciones no despreciables.
- A. CERVANTES: Efectivamente, lo que ocurre es que existe un conjunto de compuestos muy diferentes entre sí que tienen este punto común. Desde luego, el papel de los canales del calcio se ha estudiado y no parece que sea un mecanismo específico.
- M. HERNÁNDEZ-BRONCHUD: Quisiera hacer una reflexión en el sentido de que probablemente una de las funciones principales de este tipo de proteínas sea el de liberarnos de sustancias tóxicas, tales como alcaloides vegetales o xenobióticos potencialmente carcinógenos. De alguna forma, lo que quizá impide que suframos más cánceres de los que estamos padeciendo, también impide que podamos curar más cánceres mediante la quimioterapia. Además, se debe tener en cuenta que este es sólo uno de los múltiples mecanismos de quimiorresistencia y que cada vez se describen más. Por tanto, el problema de la MDR es enormemente complejo.