

PROCESOS BIOMOLECULARES DE LA RESISTENCIA A DROGAS

Patricia Sánchez-Suárez¹ y Luis Benítez-Bribiesca¹

¹ Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Hospital de Oncología, CMN S-XXI, I.M.S.S., México D.F.

RESUMEN •

LA MAYORÍA DE LOS TUMORES SÓLIDOS, de forma innata o adquirida, terminan siendo resistentes a múltiples agentes quimioterapéuticos, con estructura química y mecanismos de acción muy diferentes. Este fenómeno fue descrito experimentalmente y conocido como resistencia a múltiples drogas o MDR (“Multidrug Resistance”), que fue atribuido a una proteína transportadora de la membrana celular llamada p-glicoproteína. Posteriormente se descubrieron otros mecanismos causantes del fenotipo celular multirresistente, como otras proteínas transportadoras, las alteraciones de enzimas como las topoisomerasas, o sistemas detoxificantes conjugados a glutatión (GSH). La expulsión del fármaco fuera de la célula es probablemente el mecanismo de resistencia más estudiado y está relacionado con la acción de ciertas proteínas transportadoras, como son: Pgp (P-glycoprotein), Mrp (Multidrug resistance-associated protein) y Bcrp (Breast cancer resistance protein). Las proteínas de resistencia múltiple a drogas producen resistencia actuando como “bombas de expulsión”, disminuyendo la acumulación intracelular de varias sustancias, alterando la distribución intracelular de algunas drogas y otras alterando la apoptosis.

La célula maligna puede defenderse de los efectos de la quimioterapia, incluso después de que el medicamento halla alcanzado su objetivo y causado un daño importante por medio de un aumento en la capacidad de reparación del DNA y por lo que parece más importante, inhibiendo la muerte celular programada o apoptosis.

Palabras claves: Quimioresistencia, Resistencia a múltiple drogas, P-glicoproteína.

Correspondencia a:
Luis Benítez Bribiesca y Patricia Sánchez Suárez
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Hospital de Oncología, CMN S-XXI, IMSS, Av Cuauhtémoc 330, 06725, México D.F.
Tel: 55-78-61-74)
e-Mail: luisbenbri@mexis.com y patotota80@hotmail.com



ABSTRACT •

Most malignancies, mainly solid tumors, eventually develop resistance to a number of chemotherapeutic agents with different chemical structure and varied forms of action. This phenomenon was described experimentally and is known as “multidrug resistance” and was attributed to a transporter protein in the cell membrane named P-glycoprotein. Further on, other mechanisms responsible for the resistant phenotype were discovered, i.e. other transporter proteins, changes in topoisomerases and detoxifying systems linked to glutathion (GSH). The best studied mechanism so far is that of the expulsion of the drug from the cell cyto-

plasm by transporter proteins such as Pgp, Mrp and Bcrp. It is known that all these proteins induce resistance acting as “expulsion pumps”, diminishing the intracellular accumulation of the drugs, while others act inhibiting apoptosis.

Malignant cells can evade the delirious affect of chemotherapy increasing the DNA repair capacity mechanisms and inhibiting the programmed cell death pathway.

Key words: Chemoresistance, Multidrug resistance (MDR), P-glycoprotein.

INTRODUCCIÓN •

EL CÁNCER DE MAMA es una de las neoplasias malignas más frecuentes y una de las primeras causas de muerte por cáncer (1). En la última década ha sido posible incrementar notablemente su detección clínica en estadios incipientes, así como el diagnóstico de lesiones precursoras. Alrededor del 65% de los casos se diagnostican ahora sin metástasis ganglionares, lo que permite una evolución favorable en un 70% de ellos después del tratamiento quirúrgico, sin necesidad de terapia coadyuvante (2). Los cánceres más avanzados son los que generalmente progresan y dan metástasis por lo que requieren de tratamientos combinados y agresivos que incluyen a la quimioterapia, la radioterapia y la terapia antihormonal (3).

En las pacientes con enfermedad avanzada que requieren terapia complementaria, resulta necesario disponer de nuevos parámetros capaces de predecir la respuesta al tratamiento. Por otra parte, la toxicidad de esta terapia impide su aplicación indistinta, lo que requiere disponer de nuevos criterios para su selección adecuada.

El problema más difícil que enfrenta la quimioterapia sistémica es sin duda el desarrollo de resistencia de las neoplasias avanzadas que limita y fi-

nalmente impide su efecto terapéutico. Las causas de esa resistencia se han estudiado extensamente y son complejas y multifactoriales (4, 5, 6).

Clasificar las múltiples causas que pueden originar resistencia a la quimioterapia es difícil (5,6). El objetivo principal del tratamiento quimioterápico es conseguir la muerte de la célula tumoral. Para ello es necesario lograr 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, podríamos clasificar a los factores causantes de resistencia en extracelulares e intracelulares (4). Ambos grupos no son completamente independientes y pueden influenciarse entre si. 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 (7). La mayor parte de la información sobre mecanismos de resistencia procede de estudios in vitro (7-10). 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 descubiertos in vitro todavía está por determinarse (4,10).

LOS FACTORES EXTRACELULARES QUE LIMITAN A LA QUIMIOTERAPIA •

Prácticamente todos los agentes quimioterapéuticos usados en clínica entran en la célula por difusión pasiva (11, 12). 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, o las barreras fisiológicas, como las existentes en el sistema nervioso central y los testículos (zonas anatómicas conocidas como “santuarios” para la quimioterapia), y también la presencia en el tejido intersticial tumoral de moléculas como la colágena que dificultaran la difusión del fármaco (4).

FACTORES INTRACELULARES •

Con independencia de la cinética de crecimiento, ya sea por mutación espontánea, o por exposición a los fármacos, la célula maligna desarrolla una serie de mecanismos de defensa ante la quimioterapia. Estos mecanismos de resistencia intracelular son, posiblemente, la causa fundamental del fracaso al tratamiento (6). Son múltiples y variados (13, 14) 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 (15). Podríamos dividir estos mecanismos en tres grupos:

- 1) Los que disminuyen la concentración del fármaco a nivel de su diana molecular;
- 2) Las propias alteraciones de la diana molecular;
- 3) 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 (4,16).

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 actividad de determinadas proteínas transportadoras (14,16). Hasta ahora se conocen tres proteínas que actúan de esta manera: Pgp (P-glycoprotein), Mrp (Multidrug resistance-associated protein) y Brp (Breast cancer resistance protein).

SECUESTRO EN VESÍCULAS CITOPLASMÁTICAS Y VARIACIONES EN EL TRANSPORTE ENTRE NÚCLEO Y CITOPLASMA •

En líneas celulares resistentes a doxorubicina y cisplatino (17), se han detectado 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 proteína-MDR 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 (4).

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 glutatión S-transferasas (GSTs) conjugan el glutatión con varios xenobióticos o fármacos desempeñan-

do 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 (18), y también con antraciclinas y alquilantes como el melfalán, la ciclofosfamida, el tiotepa o la carmustina (4). 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 (19). Otra de estas proteínas, la Pgp, parece tener elementos reguladores comunes con la GST-pi, habiéndose descrito un aumento de la expresión de ambas en tumores resistentes y en tumores con baja actividad proliferativa (20).

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, 16, 21-23). Algunos autores la denominan resistencia "atípica" a múltiples drogas (24) ya que consideran "típica" o "clásica" la relacionada con la proteína Pgp. Las topoisomerasas son enzimas muy importantes en el metabolismo del DNA, ya que rompen de forma controlada y posteriormente vuelven a unir las cadenas de nucleótidos (23). 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 rupturas del DNA permiten el paso de una cadena a través de la otra, lo cual es imprescindible para la formación de la doble hélice. Existen dos isoformas de la topoisomerasa II llamadas α y β (25). 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 DNA, estabilizando las rupturas de este.

Al impedirse el restablecimiento de la integridad del DNA se inicia el proceso de la muerte celular (16,26). 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 (27-29).

Se ha informado que los niveles de topoisomerasa II α en carcinomas escamosos, adenocarcinomas y carcinomas de células grandes de pulmón, son menores que en los carcinomas de células pequeñas, lo que podría contribuir a su diferente sensibilidad a la quimioterapia (21). Las alteraciones de la topoisomerasa II α pueden jugar un papel en la resistencia a la quimioterapia del cáncer de pulmón (17,24), pero los estudios clínicos, en general, no encuentran relación con la respuesta a la quimioterapia ni con otras variables clínicas (20,24,30,31). Sin embargo, algunos estudios han detectado una menor supervivencia en los pacientes que presentan altos niveles de topoisomerasa II α (30,31).

FACTORES QUE EVITAN LA MUERTE CELULAR •

La célula tumoral puede defenderse de los efectos de la quimioterapia, incluso después de que el medicamento haya alcanzado su objetivo y causado un daño importante (4). Dos alteraciones celulares destacan a este nivel, un aumento en la capacidad de reparación del DNA y, lo que parece más importante, la inhibición de la muerte celular programada o apoptosis.

FALLA 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 (6). 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 (6). 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 DNA dañado entren en división, de tal manera que detienen el ciclo celular hasta que se repare el DNA 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 DNA opta por iniciar la apoptosis o por parar el ciclo celular y reparar dicho daño (15). La alteración de estos sistemas de control del crecimiento celular puede ser una de las causas principales de la resistencia a la quimioterapia (6). 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 DNA, se reproduzca continuamente, en lugar de morir o detener su duplicación (6,15), contribuyendo a la acumulación de errores genéticos. De hecho, se han iniciado estudios con sustancias que inducen apoptosis (32).

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 sólo el estímulo que inicia una cascada de acontecimientos que eventualmente pueden terminar con la vida de la célula (6). Un elemento importante en todo lo descrito anteriormente es la proteína p53. La p53 es una proteína activadora de la transcripción, con efecto supresor de tumor, que actúa deteniendo el ciclo celular en la fase G1 o G2, cuando la célula es expuesta a fármacos que dañan el DNA (6,33). Por otro lado, también es una potente inductora de la apoptosis (33). Las mutaciones en el gen que codifica la p53 son frecuentes en los tumores humanos (6). Las alteraciones en la regulación de la apoptosis y en

los puntos de control del ciclo celular, por mutaciones de la p53, pueden ser causa de resistencia a la quimioterapia (6,34). La p53 alterada se ha relacionado con resistencia a una gran variedad de quimioterápicos, pero, por el contrario, también con una mayor sensibilidad a otros (6). Las alteraciones de la p53 se han relacionado con la respuesta a la quimioterapia, con la resistencia al cisplatino y con las metástasis ganglionares (35-37). Por el contrario, otros estudios no han encontrado significado pronóstico (38,39), 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 para dos proteínas relacionadas con la resistencia a la quimioterapia, Mrp y Pgp (35,40). La Pgp, con independencia de su papel de bomba de membrana, 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 (6). Entre ellos tenemos la sobreexpresión 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. También la inhibición de las protein-quinasas activadas por el estrés (SAPK o “Stress-Activated Protein Kinase”), las cuales facilitan la apoptosis inducida por quimioterapia o la inhibición de la familia de proteasas conocidas como caspasas, que constituyen señales cruciales en la cascada inicial de la muerte celular y son mecanismos que contribuyen a la supresión de la apoptosis en el proceso maligno (42).

AUMENTO EN LA CAPACIDAD DE REPARACIÓN DEL DNA •

Muchos agentes citotóxicos tienen en común la alteración de la estructura del DNA (agentes alquilantes, inhibidores de la topoisomerasa y antimetabolitos) (16). El aumento en la capacidad de reparación de éste es otro mecanismo causante de resisten-

cia múltiple. Anormalidades en enzimas como la O6-alquilguanina-alquiltransferasa (ATasa) o alteraciones en los genes que reparan la escisión del DNA, parecen estar entre sus causas (6,16). 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 (43).

PROTEÍNAS RELACIONADAS CON LA RESISTENCIA A MÚLTIPLES DROGAS (PROTEÍNAS-MDR) •

La práctica clínica diaria pone en evidencia que la mayoría de los tumores sólidos, de forma innata o adquirida, terminan siendo resistentes a múltiples quimioterápicos, con estructura y mecanismos de acción muy diferentes. Este fenómeno se ha descrito experimentalmente y 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) (9,6,10,12,13,14,44).

La historia de las proteínas causantes de resistencia a múltiples drogas o proteínas-MDR, se inicia en 1973, con el descubrimiento por Keld Dano (45), 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. Estudios posteriores 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 anti-neoplásico, 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 (46). Pero fue en 1983, cuando Victor Ling y otros investigadores, dieron a conocer que el aumento de expresión de esa proteína llamada “P-glycoprotein” (Pgp) estaba implicada en la resistencia a múltiples drogas en líneas celulares de mamíferos (47).

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 PROTEÍNAS-mdr desempeñen funciones fisiológicas de protección ante toxinas exógenas (48-51). Esto último podría explicar el aumento de expresión de algunas de estas proteínas detectada en fumadores (52). Las drogas afectadas por las proteínas-MDR, 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 Da que entran en la célula por difusión pasiva.

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

- 1) 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 esta 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 (10,44).
- 2) La Lrp, se asocia con la alteración de la distribución intracelular de algunas drogas, aunque también a la Mrp y la Pgp (53,54).
- 3) La Pgp parece influir de forma directa sobre la apoptosis (41,55).

LA P-GLICOPROTEÍNA (PGP) •

La resistencia relacionada con Pgp es el mecanismo de resistencia a múltiples drogas más extensamente estudiado. Por ello se la conoce también como MDR clásica o típica (24). Al gen que codifica a Pgp se le llama MDR1, y se localiza en el cromosoma 7. En los seres humanos existe otro gen homólogo conocido como MDR3 (56). 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 colestasis intrahepática familiar progresiva tipo 3 (57). Dicha proteína no se encuentra en el tejido pulmonar y se desconoce si contribuye o no al fenómeno de la resistencia a múltiples drogas (58).

La Pgp es una glucoproteína de membrana con un peso molecular de 170 kDa, por este motivo se la llama también proteína P-170 (12). La 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 testículo y también en la barrera placentaria (14,49), en músculo, pulmón y páncreas (59).

La expresión de Pgp determina un fenotipo celular resistente a varios productos naturales como son: antraciclinas, alcaloides de la vinca, epipodofilotoxinas y taxanos entre otros; y a compuestos exógenos como son los bloqueadores de los canales del calcio (verapamilo), digoxina, opiáceos, hidrocarburos aromáticos, complejos sintéticos como el Tc99-sestamibi, rodamina 123 o antiviricos como son los inhibidores de proteasas (12,14).

Se ha detectado Pgp en varias neoplasias hematológicas y sólidas (60), pudiendo aparecer de “novo”, o ser inducida por el tratamiento con quimioterapia, hormonoterapia (61) o radioterapia (62).

LA PROTEÍNA ASOCIADA A LA RESISTENCIA A MULTIDROGAS (MRP) •

La Mrp es en realidad una familia de varios transportadores celulares (19). Las Mrps 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 (14). Las Mrp son capaces de transportar aniones orgánicos y drogas neutras, conjugadas o no, con sustancias como el glutatión, glucuronatos y sulfatos. Se cree que algunos sistemas de expulsión de conjugados de glutatión (“GS-X pumps”), pueden ser proteínas de la familia Mrp (63). Tal es el caso de la GS-X, que expulsa metotrexate (anión orgánico), y se ha relacionado con Mrp1, Mrp2 y Mrp3 (19,64). Este mismo sistema, también podría estar relacionado con la expulsión de toxinas naturales, sales de metales pesados como el arsénico y con la resistencia a pequeñas moléculas como el cisplatino (65, 66).

Mrp1: Ha sido la más estudiada del grupo. Es una proteína de 190 kDa codificada por el gen MRP1 que se localiza en el cromosoma 16. Fue descubierta por Cole y colaboradores a partir de una línea celular de cáncer de pulmón multi-resistente (H69AR) que no expresaba Pgp (48). 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 (51). El transporte de taxanos por Mrp1 es mucho menor que por Pgp, y su afinidad para aniones orgánicos mucho mayor (19). Aunque algunos autores niegan su relación con la resistencia al cisplatino (19), otros si la relacionan con la falta de respuesta a esta droga (67).

La localización celular de Mrp1 difiere de la de Pgp, mientras que ésta se localiza en la membrana apical del epitelio, Mrp1 lo hace en la membrana baso-lateral, por lo que se supone que expulsa sus substratos a un compartimento diferente (19).

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 (36). 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 (19).

Mrp3: La función fisiológica de Mrp3 no se conoce, se expresa en la membrana basolateral de los hepatocitos y también en la corteza suprarrenal (19). 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 y cisplatino (67,68) y con la exposición corta al metotrexate (19).

Mrp4: Su aumento se asocia a resistencia a compuestos antivíricos contra el HIV (PMEA o AZ-TMP). 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 (19).

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 (19).

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 (19).

PROTEÍNA DE PULMON RELACIONADA A RESISTENCIA (LRP) •

La Lrp es una proteína de 110 kDa descubierta a partir de una línea celular de cáncer de pulmón

con MDR no ligada a Pgp (69). El gen que la codifica se localiza en el cromosoma 16, cercano al de Mrp (70). En líneas celulares seleccionadas para resistencia a numerosas drogas se demostró expresión de Lrp cuando los niveles de resistencia eran bajos. Se la conoce también como MVP (Major Vault Protein), porque constituye el componente proteico mayor de organelos celulares llamados “vaults” (54). Los “vaults”, de descripción relativamente reciente (71), son ribonucleoproteínas con una compleja estructura en forma de barril.

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 (69). La transferencia del gen de Lrp solo, no es suficiente para conferir resistencia a drogas por lo que es posible que para esto se necesite el “vault” completo (54).

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 (34,72). 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, (53).

PROTEÍNA DE RESISTENCIA DEL CÁNCER MAMARIO (BRCP) •

La Brcp es la proteína-MDR de descubrimiento más reciente, aislada en líneas celulares multirresistentes seleccionadas por exposición al mitoxantrone. También se le llama MXP, ABCP o ABCG2 (73-75). Esta proteína 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, doxorrubicina) y a los inhibidores de la topoisomerasa I, de hecho es un eficiente transpor-

tador de topotecan, pero no parece afectar a los taxanos, alcaloides de la vinca ni cisplatino (14, 76, 77). Se ha detectado la expresión de Bcrp en leucemias agudas (53), y en algunos tumores sólidos como el cáncer de pulmón (54).

TÉCNICAS DE ESTUDIO DE PROTEÍNAS MDR•

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 apoyan la impresión de que el aumento en la cantidad de una proteína implica un aumento en su función (24). Con respecto al cáncer de pulmón varios estudios han detectado una relación significativa entre expresión de proteínas-MDR 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 (78-80). Estudios de expresión conjunta de varias proteínas-MDR han dado resultados discrepantes. Mientras algunos, han encontrado que una captación positiva de ^{99m}Tc-MIBI que corresponde con una buena respuesta a la quimioterapia y una baja expresión de Pgp y Mrp1, en pacientes con carcinomas de células pequeñas (79,81,82). Otros, confirman la relación con la expresión de Pgp, pero no con la de Mrp1 (80). Por el contrario, hay autores que no encuentran relación entre la respuesta a la quimioterapia y la captación de Tc-TF, en ningún tipo de cáncer de pulmón ni tampoco entre captación de ^{99m}Tc-MIBI y expresión de Pgp y Mrp1, en cáncer de pulmón de células pequeñas (57). En lo que si parece haber acuerdo, es en la falta de relación con la expresión de Lrp (80, 83-86).

Se ha detectado sobreexpresión de Pgp en un gran número de tumores sólidos tras la exposición a la quimioterapia (60, 87, 88). Es frecuente encon-

trar una elevada expresión de Pgp en pacientes no tratados con cáncer de colon, riñón, hígado, mama, suprarrenales y páncreas entre otros (60). 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 (89-91). 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 (92). La relación de Pgp con la respuesta a la quimioterapia y otros parámetros clínicos, es aún más controvertida que en las neoplasias hematológicas (60). Su expresión se ha relacionado con una peor respuesta a la quimioterapia y/o un peor pronóstico en tumores como, sarcomas y neuroblastomas infantiles (93, 94), cáncer de mama (61,95), colon (91), vejiga (88), ovario (96), hepatoblastomas (97), carcinoma nasofaríngeo (98), retinoblastoma (99), osteosarcomas (100, 101). Por el contrario, otros autores no encuentran tal relación en carcinomas gástricos (102), cáncer renal (103), ovario (104, 105), osteosarcomas (106), mama (107), mesoteliomas (108). Como se aprecia los resultados son contradictorios 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 quimioterapéutico en tumores sólidos está por determinarse.

CONCLUSIONES•

Es evidente que el problema de la quimioresistencia es multifactorial y por ello muy complejo. Resulta claro que las células neoplásicas, ante el reto de moléculas tóxicas, son capaces de desencadenar mecanismos biomoleculares que las hacen resistentes a los efectos lesivos de la mayoría de los oncofármacos y que no es posible predecir su comportamiento únicamente con la determinación de las proteínas responsables. La quimioresistencia es un reto mayor para el tratamiento de los cánceres como el de mama. Se requieren estrategias alternativas para sortear este fenómeno.

REFERENCIAS •

1. Desforges JF. Prognostic factors and treatment decisions in axillary-node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 1992; 326: 1756-1761 •
2. Clark GM. Prognostic and predictive factors. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Hellman S, editors. *Diseases of the breast*. Philadelphia: Lippincott-Raven. P. 1996; 461-485 •
3. Gasparini G, Pozza F, Harris AL. Evaluating the potential usefulness of new prognostic and predictive indicators in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1206-1219 •
4. Lehnert M. Clinical Multidrug Resistance in Cancer: A Multifactorial Problem. *Eur J Cancer* 1996; 32A(6): 912-920 •
5. 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 •
6. 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 •
7. 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; 19(5B): 4333-4336 •
8. 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 •
9. Doyle LA. Mechanisms of Drug Resistance in Human Lung Cancer Cells. *Semin Oncol* 1993; 20: 326-337 •
10. Bradshaw D, Arceci RJ. Clinical Relevance of Transmembrane Drug Efflux as a Mechanism of Multidrug Resistance. *J Clin Oncol* 1998; 16: 3674-3690 •
11. Duchesne MG. Fundamental bases of combined therapy in lung cancer: cell resistance to chemotherapy and radiotherapy. *Lung Cancer* 1994; 10 (Suppl. 1): S67-S72 •
12. 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 •
13. Simon MF, Schindler M. Cell biological mechanisms of multidrug resistance in tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994; 91: 3497-3504 •
14. Tan B, Piwnica-Worms D, Ratner L. Multidrug resistance transporters and modulation. *Current Opinion in Oncology* 2000; 12: 450-458 •
15. Tamm I, Schriever F, Dörken B. Apoptosis: implications of basic research for clinical oncology. *Lancet Oncol* 2001; 2: 33-42 •
16. 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 •
17. Nishio K, Nakamura T, Koh Y. Drug resistance in lung cancer. *Current Opinion in Oncology* 1999; 11: 109-115 •
18. 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 •
19. Borst P, Evers R, Koel M. A Family of Drug Transporters: the Multidrug Resistance-Associated Proteins. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1295-1302 •
20. 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: 700-704 •
21. Kreisholt J, Sorensen M, Jensen PB. 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: 1469-1473 •
22. Zhou Z, Zwelling LA, Kawakami Y, An T, Kobayashi K, Herzog C, Kleinerman ES. Adenovirus-mediated human topoisomerase IIalpha gene transfer increases the sensitivity of etoposide-resistant human breast cancer cells. *Cancer Res.* 1999; 59: 4618-24 •
23. Plasencia C, Tarón M, Abad A. 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 •
24. Scagliotti GV, Novello S, Selvaggi G. Multidrug resistance in non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology* 1999; 10 (Suppl. 5): S83-S86 •
25. Drake FH, Hofmann GA, Bartus HF. Biochemical and Pharmacological properties of p170 and p180 forms of topoisomerase II. *Biochemistry* 1989; 28: 8154-8160 •
26. 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 •
27. Rincon M, Broadwater G, Harris L, Crocker A, Weaver D, Dressler L, Berry D, Sutton L, Michaelson R, Messino M, Kirshner J, Fleming G, Winer E, Hudis C, Appel S, Norton L, Muss H; for the Cancer and Leukemia Group B. Interleukin-6, multidrug resistance protein-1 expression and response to paclitaxel in women with metastatic breast cancer: results

- of cancer and leukemia group B trial 159806. *Breast Cancer Res Treat.* 2006; [Epub ahead of print] •
28. Yang X, Uziely B, Groshen S, Lukas J, Israel V, Russell C, Dunnington G, Formenti S, Muggia F, Press MF. MDR1 gene expression in primary and advanced breast cancer. *Lab Invest.* 1999 79:271-80 •
29. Faneyte IF, Kristel PM, van de Vijver MJ. Determining MDR1/P-glycoprotein expression in breast cancer. *Int J Cancer.* 2001; 93:114-22 •
30. Giaccone G, van Ark-Otte J, Scagliotti G. Differential expression of DNA topoisomerases in non-small-cell lung cancer and normal lung. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1264: 337-346 •
31. Dingemans AC, van Ark-Otte J, Span S. Topoisomerase IIalpha and other drug resistance markers in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2001 May; 32: 117-128 •
32. Yang HH, Ma MH, Vescio RA. Overcoming Drug Resistance In Multiple Myeloma: The Emergence Of Therapeutic Approaches To Induce Apoptosis. *J Clin Oncol* 2003; 21: 4239-4247 •
33. 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 •
34. Marie JP. Drug resistance in hematologic malignances. *Current Opinion in Oncology* 2001; 13: 463-469 •
35. Chin KV, Ueda K, Pastan I. Modulation of activity of the promoter of the human MDR1 gene by Ras and p53. *Science* 1992; 2: 459-62 •
36. Harada T, Ogura S, Yamakazi K. 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: 394-399 •
37. Kawasaki M, Nakanishi Y, Kuwano K. Immunohistochemically Detected p53 and P-glycoprotein Predict the Response to Chemotherapy in Lung Cancer. *Eur J Cancer* 1998, 34: 1352-1357 •
38. Galimberti S, Marchetti A, Buttitta F. Multidrug resistance related genes and p53 expression in human non small cell lung cancer. *Anticancer Res* 1998; 18(4c): 2973-2976 •
39. Schiller JH, Adak S, Feins RH. 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 •
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. 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. Positive and negative regulation of apoptotic pathways by cytotoxic agents in hematological malignances. *Leukemia* 2000; 14: 1833-1849 •
43. Rosell R, Monzo M, Alberola V. Determinants of Response and Resistance to Cytotoxics. *Semin Oncol; Vol 29, No1, Suppl 4 (February), 2002: 110-118.* Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug Resistance In Cancer: Role Of Atp-Dependent Transporters. *Nature Reviews Cancer* 2002; 2: 48-58 •
44. Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug Resistance In Cancer: Role Of Atp-Dependent Transporters. *Nature Reviews Cancer* 2002; 2: 48-58 •
45. Dano K. Active outward transport of daunomycin in resistant Ehrlich ascitis tumor cells. *Biochim Biophys Acta* 1973; 323: 466-483 •
46. Juliano RL, Ling V. A Surface Glycoprotein Modulating Drug Permeability In Chinese Hamster Ovary Cell Mutants. *Biochim Biophys Acta* 1976; 455:152-162 •
47. Kartner N, Riordan JR, Ling V. Cell surface P-glycoprotein associated with multidrug resistance in mammalian cell lines. *Science* 1983; 221: 1285-1288 •
48. Cole SPC, Bhardwaj G, Gerlach JH. Overexpression of a Transporter Gene in a Multidrug-Resistant Human Lung Cancer Cell Line. *Science* 1992; 258: 1650-1654 •
49. Cordon-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 •
50. Goldstein LJ, Galski H, Fojo A. Expression of a Multidrug Resistance Gene in Human Cancers. *JNCI* 1989; 81: 116-124 •
51. Zaman GJR, Flens MJ, Van Leusden MR. The Human Multidrug Resistance-associated Protein MRP is a Plasma Membrane Drug-Efflux Pump. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 8822-8826 •
52. Koomagi R, Stammli G, Manegold C. Expression of resistance-related proteins in tumoral and peritumoral tissues of patients with lung cancer. *Cancer Lett* 1996; 110: 129-136 •
53. Kitazono M, Sumizawa T, Takebayashi Y. Multidrug resistance and the lung resistance-related protein in human colon carcinoma SW-620 cells. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1647-1653 •
54. Scheffer GL, Wijngaard PLJ, Flens MJ, Izquierdo MAI. The drug resistance-related protein LRP is the human major vault protein. *Nature Med* 1995; 1: 578-582 •
55. 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 •

56. Lincke CR, Smitt JJ, van der Velde-Koerts T. Structure Of The Human MDR3 Gene And Physical Mapping Of The Human MDR Locus. *J Biol Chem* 1991; 266: 5303-5310 •

57. de Vree JM, Jacquemin E, Sturm E. Mutations in the MDR3 gene cause progressive familial intrahepatic cholestasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 282-7 •

58. Scheffer GL, Pijnenborg ACLM, Smit EFl. Multi-drug resistance related molecules in human and murine lung. *J Clin Pathol.* 2002; 55: 332-339 •

59. Sugawara I, Akiyama S, Scheper RJ. Lung resistance protein (LRP) expression in human normal tissues comparison with that of MDR1 and MRP. *Cancer Lett* 1997; 112: 23-31 •

60. Godstein LJ. MDR1 Gene Expression in Solid Tumours. *Eur J Cancer* 1996; 32A(6): 1039-1050 •

61. 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 •

62. Ng I, Lam K, Ng M. 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 •

63. Jedlitschky G, Leier I, Buchholz U. ATP-dependent transport of glutathione S-conjugates by the multidrug resistance-associated protein. *Cancer Res* 1994; 54: 4833-4836 •

64. Rappa G, Loico A, Flavell R. Evidence that the multidrug resistance protein (MRP) functions as a cotransporter of glutathione and natural product toxins. *Cancer Res* 1997, 57:5232-5237 •

65. Shepherd FA, Carney DN. Treatment of NSCLC: Chemotherapy. *Textbook of Lung Cancer*. Editado por Heine H Hansen. Martín Dunitz Ltd, London 2000: 213-242 •

66. Grant CE, Valdimarsson G, Hipfner DR. Overexpression of Multidrug Resistance-Associated Protein (MRP) Increases Resistance to Natural Product Drugs. *Cancer Res* 1994; 54: 357-361 •

67. Young LC, Campling BG, Voskolou-Nomikos T. Expression of Multidrug Resistance Protein-related Genes in Lung Cancer: Correlation with Drug Response. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 673-680 •

68. Young LC, Campling BG, Cole SPC, 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. Scheper RJ, Broxterman HJ, Scheffer GL, Overexpression of a Mr 110.000 Vesicular Protein in Non-P-Glycoprotein-Mediated Multidrug Resistance. *Cancer Res* 1993; 53: 1475-1479 •

70. Slovak ML, Pelkey Ho J, Cole SPC. The LRP gene en-

coding a major vault protein associated with drug resistance maps proximal to MRP on cromosoma 16 : Evidence that cromosoma breakage plays a key role in MRP or LRP gene amplification. *Cancer Res* 1995; 55: 4214-4219 •

71. 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 •

72. Izquierdo MA, Shoemaker RH, Flens MJ. Overlapping phenotypes of multidrug resistance among panels of human cancer-cell lines. *Int J Cancer* 1996; 65: 230-237 •

73. Ikeda K, Oka M, Narasaki F. Lung resistance-related protein gene expression and drug sensitivity in human gastric and lung cancer cells. *Anticancer Res* 1998; 18(4C): 3077-3080 •

74. Allikmets R, Schriml L, Hutchinson AI. A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on cromosoma 4q22 that is involved in multidrug resistance. *Cancer Res* 1998, 58: 5337-5339 •

75. Miyake K, Mickley L, Litman T. Molecular cloning of cDNA which are highly overexpress in mitoxantrone-resistant cells: demonstration of homology to ABC transport genes. *Cancer Res* 1999, 59: 8-13 •

76. Ross DD, Karp JE, Chen TT. Expression of breast cancer resistance protein in blast cells from patients with acute leukemia. *Blood* 1999; 96: 365-368 •

77. Maliepaard M, van Gastelen MA, de Jong LA. Overexpression of the BCRP/MXR/ABCP gene in a topotecan selected ovarian tumor cell line. *Cancer Res* 1999; 59: 4559-4563 •

78. Kostakoglu L, Kiratli P, Ruacan S. Association of tumor washout rates and accumulation of technetium-99m-MIBI with expression of P-glycoprotein in lung cancer. *J Nucl Med* 1998; 39: 228-234 •

79. Kao A, Shiun SC, Hsu NY. Technetium-99m methoxyisobutylisonitrilo chest imaging for small cell lung cancer: Relationship to chemotherapy response (six courses of combination of cisplatin and etoposide) and p-glycoprotein or multidrug resistance related protein expression. *Ann Oncol* 2001; 12: 1516-1566 •

80. Zhou J, Higashi K, Ueda YI. Expression of multidrug resistance protein and messenger RNA correlate with (99m)Tc-MIBI imaging in patients with lung cancer. *J Nucl Med* 2001; 42: 1476-83 •

81. Kao CH, Changlai SP, Chieng PU. Technetium-99m Methoxyisobutylisonitrilo Chest Imaging of Small Cell Lung Carcinoma. *Cancer* 1998; 83: 64-68 •

82. Shiau Y, Tsai S, Wang J. 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 •

83. Dirlilik A, Burak Z, Goksel T. The role of Tc-99m sestamibi imaging in predicting clinical response to chemotherapy in lung cancer. *Ann Nucl Med* 2002; 16:103-108 •
84. Shi D, Huang G, Miao J. Correlation of the uptake of technetium-99m 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: 824-827 •
85. Bates SE, Chen C, Robey R. Reversal of multidrug resistance: lessons from clinical oncology. *Novartis Foundation Symposium* 243, 2002: 83-102 •
86. 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: 627-632 •
87. Petrylack DP, Sher HI, Reuter V. Expresión de P-glicoproteína en el carcinoma de células transicionales de vejiga primario y metastásico. *Ann Oncol* (ed. español) 1995; 1: 68-74 •
88. Tada Y, Wada M, Migata T. Increased expresión of multidrug resistance-associated proteins in bladder cancer during clinical course and drug resistance to doxorubicin. *Int J Cancer* 2002; 98: 630-635 •
89. Charpin C, Vielh P, Duffaud F. Quantitative immunocytochemical assays of P-glycoprotein in breast carcinomas: correlation to messenger RNA expression and to immunohistochemical prognostic indicators. *JNCI* 1994; 86: 1539-1545 •
90. Levine EA, Holzmayer T, Bacus S. Evaluation of Newer prognostic Markers for adult Soft Tissue Sarcomas. *J Clin Oncol* 1997; 15: 3249-3257 •
91. Sinicrope FA, Hart J, Brasitus TA. 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 •
92. Benchimol S, Ling V. P-glycoprotein and tumor progression. *JNCI* 1994; 86: 814-816 •
93. 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 •
94. Chan HSL, Thorner PS, Haddad G. Immunohistochemical Detection of P-Glycoprotein: Prognostic Correlation in Soft Tissue Sarcoma of Childhood. *J Clin Oncol* 1990; 8: 689-704 •
95. Schneider J, Gonzalez-Roces S, Pollan M. 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: 183-191 •
96. Kamazawa S, Kigawa J, Kanamori YI. Multidrug resistance gene-1 is a useful predictor of Paclitaxel-based chemotherapy for patients with ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2002; 86: 171-176 •
97. Warmann S, Hunger M, Teichmann BI. The role of the MDR1 gene in the development of multidrug resistance in human hepatoblastoma: clinical course and in vivo model. *Cancer* 2002, 95: 1795-1801 •
98. Hsu CH, Chen CL, Hong RL. Prognostic value of multidrug resistance 1, glutathione-s-transferase-pi and p53 in advanced nasopharyngeal carcinoma treated with systemic chemotherapy. *Oncology* 2002; 62: 305-312 •
99. Chan HS, Lu Y, Grogan TM. 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: 2325-2330 •
100. Baldini N, Scotlandi K, Barbanti-Brodano G. Expression of P-glycoprotein in high grade osteosarcoma in relation to clinical outcome. *N Engl J Med* 1995; 333: 1380-1385 •
101. 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 •
102. Choi JH, Lim HY, Joo HJ. 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: 1578-85 •
103. Oudard S, Levalois C, Andrieu JM. 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: 121-128 •
104. Arts HJG, Katsaros D, de Vries EGE. 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 •
105. Nakayama K, Kanzaki A, Ogawa K. 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: 488-495 •
106. Wunder JS, Bull SB, Aneliunas V. MDR1 Gene Expression and Outcome in Osteosarcoma: A Prospective, Multicenter Study. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2685-2694 •
107. Kanzaki A, Toi M, Nakayama K. Expression of multidrug resistance-related transporters in human breast carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 2001; 92: 452-458 •
108. Soini Y, Järvinen K, Kaarteenaho-Wiik R. The expression of P-glycoprotein and multidrug resistance proteins 1 and 2 (MRP1 and MRP2) in human malignant mesothelioma. *Ann Oncol* 2001; 12: 1239-1245 •