Expresión de proteínas relacionadas con resistencia a múltiples drogas (MDR-Proteínas) y resistencia a la quimioterapia en el cáncer de pulmón

A. Paredes Lario¹, C. Blanco García¹, M. Echenique Elizondo²

Resumen

Propósito: El objetivo de este estudio es analizar la expresión de proteínas transportadoras de fármacos y la resistencia a la quimioterapia en el cáncer de pulmón.

Material y métodos: Se recogieron 147 muestras tumorales procedentes de 143 pacientes (35 broncoscópicas y 112 quirúrgicas). Resultaron válidas para el estudio 101 muestras correspondientes a 99 pacientes. Las muestras tumorales criocongeladas fueron sometidas a análisis inmunohistoquímico para la detección de las tres MDR-proteínas, Pgp, Mrp1 y Lrp.

Resultados: No expresaron ninguna proteína, 16 casos. Expresaron una sola proteína, 32 casos: 3 Pgp, 11 Mrp1 y 18 Lrp=0. Expresaban dos proteínas, 34 casos: 24 Pgp y Lrp, 5 Mrp1 y Pgp, 5 Mrp1 y Lrp=0. Expresaban las tres proteínas, 17 casos. No hemos detectado relación significativa entre la edad y la expresión de Pgp ($p=0.74$), Mrp1 ($p=0.95$), o Lrp ($p=0.26$). No observamos diferencias significativas entre sexos, tanto al analizar por el número ($p=0.72$), como por el tipo ($p=0.39$) de proteínas expresadas de forma simultánea. Tampoco detectamos diferencias significativas entre los diferentes estadios tumorales, tanto para el número ($p=0.55$), como para el tipo ($p=0.21$) de MDR-proteínas expresada. Tampoco encontramos diferencias significativas entre los diferentes grados histológicos, tanto para el número ($p=0.59$), como para el tipo ($p=0.51$) de MDR-proteínas expresadas simultáneamente. La tendencia de Pgp y Lrp a expresarse asociadas ha resultado muy significativa ($p<0.01$), no ocurrió lo mismo para la sociación Pgp y Mrp1 ($p=0.18$) o Mrp1 y Lrp ($p=0.26$).

Conclusiones: Pgp se expresa fundamentalmente asociada a Lrp. Solamente la expresión de Pgp y el número de proteínas expresadas simultáneamente parece guardar relación con la respuesta a la quimioterapia.

Palabras clave:

MDR-proteínas. Cáncer de pulmón.

Oncología, 2006; 29 (6):245-253

¹ Servicio de Oncología. Hospital Donostia.

² Departamento de Cirugía. Universidad del País Vasco
San Sebastián (Guipúzcoa). España

Recibido: 24.02.06

Revisado 1: 10.03.06

Revisado 2: 24.04.06

Aceptado: 28.04.06

Summary

Purpose: To evaluate the expression of MDR-proteins in the response to lung cancer chemotherapy.

Methods: 147 tumor samples were collected from 143 patients, 35 of which were obtained by bronchoscopy and 112 from surgery; 101 samples belonging to 99 patients were considered valid for the study. The samples were cryopreserved and immunochemistry with monoclonal murine antibodies used to determine the MDR-proteins Pgp, Mrp1 and Lrp.

Results: No MDR-proteins were expressed in 16 cases. One MDR-protein was present in 32 cases: Pgp in 3, Mrp1 in 11 and Lrp in 18. Two MDR-proteins were expressed in 34 cases: Pgp and Lrp in 24, Mrp1 and Pgp in 5, and Mrp and Lrp in 5. All the three MDR-proteins were present in 17 cases. No differences were observed considering age (Pgp, $p = 0.74$; Mrp1, $p = 0.95$; Lrp, $p = 0.26$). Neither sex produced changes when considering either number of MDR-proteins ($p = 0.55$) or types of them ($p = 0.21$). Significant differences of MDR-proteins were also lacking for number ($p = 0.59$) and type ($p = 0.51$) in relation to the tumor histologic grade. The tendency to the simultaneous expression of Pgp and Lrp was very significant ($p < 0.01$), while the simultaneous expression of Mrp1 and Lrp showed to be no significant ($p = 0.26$).

Conclusions: Pgp and Lrp are frequently expressed simultaneously. Only the expression of Pgp and the number of MDR-proteins expressed simultaneously seem to be related to response to chemotherapy.

Key words: MDR-proteins. Lung cancer.

La resistencia a la quimioterapia, independientemente de los mecanismos que la produzcan, puede ser innata o adquirida. La resistencia innata sería aquella que presenta un tumor sin contacto previo a los fármacos, mientras que la adquirida sería la que aparece tras el contacto con uno o varios de ellos¹. Existen dos características tumorales, que parecen determinar la resistencia a la quimioterapia: la cinética de crecimiento², y en estrecha relación con esta, la aparición de mutaciones espontáneas^{3, 4}. Muchos tumores al ser tratados con quimioterapia, incluidos los de pulmón, siguen aparentemente las reglas enunciadas por Skipper y Simpson-Herren⁴. La mayor parte de los pacientes con cáncer de pulmón no célula pequeña, no responden al tratamiento quimioterápico desde el principio⁵, es decir, presentan resistencia intrínseca o innata.

No existe una definición claramente establecida sobre lo que se considera un tumor “resistente” a nivel clínico. Algunos autores⁶ consideran apropiado emplear criterios de valoración de respuesta a la

quimioterapia, como los de la OMS⁷, considerando sensibles a los tumores con respuesta completa y resistentes o parcialmente resistentes a los demás. Dado que, hasta el momento, no se ha identificado ningún mecanismo que por si solo confiera resistencia a todos los fármacos conocidos^{1, 8}, es muy probable, que esta resistencia sea de causa multifactoria⁹. 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 celular¹⁰⁻¹³, por secuestro en vesículas citoplasmáticas⁶, por variaciones en el transporte entre núcleo y citoplasma o por alteración en el metabolismo intracelular del fármaco^{14, 15}.

Las proteínas causantes de resistencia a múltiples drogas o MDR-proteínas, se conocen desde 1973, con el descubrimiento por Keld Dano¹⁶, de la expulsión activa de daunomicina en células tumorales resistentes. Pgp es una glucoproteína de membrana con un peso molecular de 170 kD, por este motivo

se la llama también proteína P-170¹⁷. Pgp actúa como una bomba de expulsión ATP-dependiente, reduciendo la acumulación intracelular de varias sustancias. Mrp es en realidad una familia de varios transportadores celulares^{18, 19}. Las Mrp se localizan en la membrana plasmática, formando parte, como la Pgp, de los transportadores ABC, pero también en el retículo endoplasmático, de lo que se infiere que puedan actuar tanto en la expulsión de drogas fuera de la célula como en el secuestro intracelular de estas en vesículas citoplasmáticas^{13, 20-22}. La Lrp es una proteína de 110 kilodaltons descubierta a partir de una línea celular de cáncer de pulmón con MDR no ligada a Pgp²³. El gen que la codifica se localiza en el cromosoma 16, (cerca del de Mrp). Se la conoce también como MVP (Major Vault Protein), porque constituye el componente proteico mayor de unas organelas celulares llamadas vaults²⁴. Los vaults, de descripción relativamente reciente²⁵, son ribonucleoproteínas con una compleja estructura en forma de barril. Los vaults tienen una composición y estructura casi idénticas en especies filogenéticamente tan alejadas como amebas y humanos, lo que parece indicar que su función es esencial para las células eucariotas.

El motivo del presente trabajo es el estudio inmunohistoquímico de la expresión de las proteínas Pgp, Mrp1 y Lrp (MDR-proteínas), en muestras tumorales de cáncer de pulmón y la respuesta al tratamiento quimioterápico según la expresión de MDR-proteínas.

Material y métodos

El presente estudio se ha realizado en muestras de tejido tumoral de pacientes diagnosticados y/o tratados de cáncer de pulmón en el Hospital Donostia de San Sebastián entre abril de 1995 y junio de 1997. Dicho estudio fue aprobado por el comité de Ética Médica del hospital.

Obtención y conservación de muestras

Muestras quirúrgicas. Durante el acto quirúrgico, se tomaban dos muestras de la zona tumoral que se introducían en criotubos y se almacenaban en una cubeta portátil de nitrógeno líquido hasta su procesamiento. El estudio de las muestras se realizó pasa-

dos dos años de su extracción y no interfirieron los resultados en el protocolo terapéutico aplicado a nuestros pacientes.

Muestras broncoscópicas. Se tomaba una muestra que era tratada del mismo modo que las piezas quirúrgicas.

Se recogieron 147 muestras tumorales procedentes de 143 pacientes. La edad media de los 99 pacientes fue de $64 \pm 10,2$. La serie se compone de 85 hombres y 14 mujeres con una media de edad de $64 \pm 9,7$ años y de 61 ± 13 para las mujeres. De éstas, 35 eran broncoscópicas y 112 quirúrgicas. De 4 pacientes se dispuso de muestra quirúrgica y broncoscópica. No fueron válidas para el estudio 46 muestras: 27 broncoscópicas por ausencia de tumor y 19 quirúrgicas, de las cuales 15 lo fueron por ausencia de tumor, 3 por tratamiento quimioterápico previo, y 1 por tumor de origen no pulmonar. Resultaron válidas para el estudio 101 muestras correspondientes a 99 pacientes. En dos pacientes se dispuso de muestra broncoscópica y quirúrgica, optándose por procesar únicamente la quirúrgica. Finalmente, el estudio se realizó en 99 muestras de 99 pacientes, 6 de ellas broncoscópicas y 93 quirúrgicas.

Estudio inmunohistoquímico de las muestras tumorales

Las muestras tumorales criocongeladas fueron sometidas a análisis inmunohistoquímico para la detección de las tres MDR-proteínas, Pgp, Mrp1 y Lrp. Para ello se utilizó la técnica comercial de estreptavidina-biotina (LSAB de DAKO), junto con anticuerpos monoclonales no comerciales, procedentes de un laboratorio de investigación universitario, Universidad Libre de Ámsterdam. Se utilizaron los siguientes anticuerpos monoclonales: MRPr1 reconoce la proteína Mrp1; MRPM6 reconoce la proteína Mrp1; LRP-56 reconoce la proteína Lrp; y JSB-1 reconoce la proteína Pgp. Como Sistema de visualización se utilizaron LSAB y Kits de diaminobenzidina (Dako), Acetona, Suero bovino y PBS (buffer fosfato salino).

Expresión de Mdr-proteínas

Se cuantificó la proporción de células que reaccionaban con el anticuerpo monoclonal. Se conside-

ró como positiva, cuando un 10% o más de las células de la preparación expresaban la proteína MRP y PgP a nivel de membrana celular y LRP a nivel de los "vaults" citoplasmáticos. El estudio de la expresión de MDR-proteínas y su relación con las diferentes variables clínico-patológicas se realizó de dos formas:

1. Individual o independiente: Analizamos la expresión de cada proteína por separado, sin tener en cuenta si se expresaba sólo o asociada a las otras.
2. Simultáneo: Analizamos la expresión conjunta de MDR-proteínas en los pacientes desde diferentes puntos de vista: a) expresión positiva frente a expresión negativa: Con independencia del número o tipo de proteína expresada; b) número de proteínas expresadas simultáneamente con independencia del tipo: Ninguna, una, dos, o tres; c) número y Tipo de MDR-proteínas expresadas simultáneamente: Ninguna, Pgp, Mrp1, Lrp, Pgp+Lrp, Mrp1+Pgp, Mrp1+Lrp, y las tres a la vez.

Parámetros patológicos. Edad; Sexo; Tipo histológico, las muestras fueron clasificadas, mediante examen en microscopio óptico tras tinción con hematoxilina y eosina (H & E), siguiendo los criterios de la OMS en los siguientes tipos histológicos: Carcinomas escamosos, adenocarcinomas, carcinomas indiferenciados de célula grande, carcinomas indiferenciados de célula pequeña y otros; Grado de diferenciación histológico. Se determinó el grado histológico de las muestras por tinción con H & E y examen al microscopio óptico. Fue la zona más indiferenciada de la muestra la que marco el grado, quedando este clasificado en uno de los siguientes grupos: bien diferenciado, moderadamente diferenciado, pobremente diferenciado; estadio patológico, Se estableció por el sistema TNM, según la clasificación de la UICC 1997. Se utilizó el estadio clínico en aquellos casos no tratados quirúrgicamente y el estadio patológico en los que sí lo fueron.

Parámetros clínico-evolutivos. Se registraron los datos clínicos y evolutivos de los casos adecuadamente controlados incluyendo, estadio tumoral, intervalo libre de enfermedad, supervivencia y respuesta al tratamiento quimioterápico. Los últimos controles de seguimiento se realizaron en Marzo del 2004.

Resultados

La serie se compone de 85 hombres y 14 mujeres. La edad media de los 99 pacientes fue de $64 \pm 10,2$, con una media de edad de $64 \pm 9,7$ años y de 61 ± 13 para las mujeres. Presentaban tumores con histología no célula pequeña, 93 pacientes (49 carcinomas escamosos, 37 adenocarcinomas y 7 carcinomas indiferenciados de célula grande), 3 carcinomas indiferenciados de célula pequeña y 3 con otras histologías (1 carcinoma con diferenciación neuroendocrina, 1 carcinoma sin más especificación y 1 tumor carcinoide). Con respecto al grado de diferenciación histológica, en 20 casos fue bien diferenciado, en 35 moderadamente diferenciado, en 43 pobremente diferenciado, y en 1 paciente no pudo especificarse el grado. Por estadios los 99 pacientes se agruparon de la siguiente forma: Estadio I, 45 casos (Ia 14, Ib 31). Estadio II, 23 casos (IIA 0, IIB 23). Estadio III, 22 casos (IIIA 15, IIIB 7). Estadio IV, 9 casos (Tabla I).

En 83 de los 99 pacientes expresaban alguna MDR-proteína, y 16 no expresaban ninguna. La distribución fue la siguiente: En el análisis de la expresión independiente de cada Mdr-proteína, los resul-

TABLA I

Distribución de los 99 pacientes con respecto a las variables clínico-patológicas

Edad	Media 64 años (36-83)
Sexo	85 Hombres 14 Mujeres
Estadio	I: 45 (Ia 14, Ib 31) II: 23 (IIa 0, IIB 23) III: 22 (IIIA 15, IIIB 7) IV: 9
Histología	93 NSCLC • 49 C. escamosos (47 ♂, 2 ♀) • 37 Adenocarcinomas (28 ♂, 9 ♀) • 7 Indiferenciados células grandes (6 ♂, 1 ♀) 3 SCLC (3 ♂) 3 Otros (1 ♂*, 2 ♀**)
Grado Histológico	20 Bien diferenciado 35 Moderadamente diferenciado 43 Pobremente diferenciado 1 Desconocido

* Carc. con diferenciación neuroendocrina, t. carcinoide.

** Carc. sin especificar.

NSCLC= ca. pulmón no microcítico; SCLC= ca. pulmón microcítico.

TABLA II

Expresión de MDR-proteínas en los 99 pacientes de la serie

tados fueron los siguientes: **Pgp**: Sin expresión 50 (50,5%) pacientes, con expresión 49 (49,5%). **Mrp1**: Sin expresión 61 (61,6%) pacientes, con expresión 38 (38,4%). En 30 de los 38 pacientes que la expresaban presentaron observó positividad para los dos anticuerpos monoclonales empleados. **Lrp**: Sin expresión 35 (35,4%) pacientes, con expresión 64 (64,6%) (Tablas II, III y IV).

Análisis de la asociación entre MDR-proteínas

Hemos estudiado la tendencia de las MDR-proteínas a expresarse en solitario o asociadas a las otras,

TABLA III

Número y tipo de MDR-proteínas expresadas simultáneamente

<i>Expresión simultánea de MDR-proteínas</i>				<i>Nº de pacientes</i>
<i>Nº</i>		<i>Tipo de MDR-P</i>		
Expresión Negativa				16
Expresión Positiva	Una	Pgp	3	83
		Mrp1	11	
		Lrp	18	
		Total	32	
	Dos	Pgp+Lrp	24	
		Mrp1+Pgp	5	
		Mrp1+Lrp	5	
		Total	34	
Tres	Pgp+Mrp1+Lrp		17	
	Total pacientes			99

P<0,01

con los siguientes resultados: **Pgp**: De los 49 casos en que se expresó esta proteína, en 3 (6%) lo hizo sola, y en 46 (93%) asociada: con Lrp en 24, con Mrp1 en 5 y en 17 con Lrp y Mrp1 a la vez. **Mrp1**: De los 38 casos en que se expresó esta proteína, en

TABLA IV

Tipo y número de MDR-p e histología de los tumores

		<i>Histología</i>					<i>Total</i>
		<i>Escamosos</i>	<i>Adenocarc.</i>	<i>Cel. Grande</i>	<i>Sclc</i>	<i>Otros</i>	
Tipo y número de MDR-p	Ninguna	5	7	0	2	2	16
		10,2%	18,9%	,0%	66,7%	66,7%	16,2%
	Pgp	2	1	0	0	0	3
		4,1%	2,7%	,0%	,0%	,0%	3,0%
	Mrp1	8	0	1	1	1	11
		16,3%	,0%	14,3%	33,3%	33,3%	11,1%
	Lrp	6	10	2	0	0	18
		12,2%	27,0%	28,6%	,0%	,0%	18,2%
	Pgp+Lrp	5	17	2	0	0	24
		10,2%	45,9%	28,6%	,0%	,0%	24,2%
	Mrp1+Pgp	5	0	0	0	0	5
		10,2%	,0%	,0%	,0%	,0%	5,1%
	Mrp1+Lrp	4	0	1	0	0	5
		8,2%	,0%	14,3%	,0%	,0%	5,1%
	Pgp+Mrp1+Lrp	14	2	1	0	0	17
Total		28,6%	5,4%	14,3%	,0%	,0%	17,2%
		49	37	7	3	3	99
		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

TABLA V

Pacientes válidos para la valoración de la respuesta a la quimioterapia: Histología, situación de la enfermedad al iniciar el tratamiento, expresión de MDR-proteínas y respuesta

	Histología	Estadio	Pgp	Mrp1	Lrp	Respuesta
1	Adenocarcinoma	IIIB	-	-	-	RC
2	Dif. Neuroendoc.	Rmts	-	-	-	RP
3	Sclc	IV	-	-	-	RP
4	Escamoso	Rmts	-	-	-	RP
5	Escamoso	IIIA	-	+	+	RP
6	Cel. Grande	IIIB	-	+	+	RP
7	Adenocarcinoma*	Rmts	+	-	+	EE
8	Adenocarcinoma	Rlr	+	-	+	RP
9	Adenocarcinoma	Rmts	+	-	+	RP
10	Adenocarcinoma	IV	+	-	+	RP
11	Escamoso*	Rmts	+	+	-	F
12	Cel. Grande	IV	-	-	+	F
13	Sclc	IIIA	-	+	-	RP
14	Escamoso	IIIA	-	+	-	RP
15	Escamoso	Rlr	+	+	+	EE
16	Escamoso	Rlr	+	+	+	F
17	Escamoso*	Rmts	+	+	+	F

Abreviaturas: Rlr: recidiva loco-regional. Rmts: recidiva metastásica. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. F: Fallo o enfermedad en progresión.

* Pacientes que recibieron quimioterapia adyuvante postcirugía y en la recidiva

TABLA VI

Expresión de Pgp* y respuesta a la quimioterapia

		Respuesta quimioterapia		Total
		RC+RP	EE+EP	
Pgp	negativo	8	1	9
		72,7%	16,7%	52,9%
	positivo	3	5	8
		27,3%	83,3%	47,1%
Total		11	6	17
		100,0%	100,0%	100,0%

P<0,05

Abreviaturas. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. EP: Enfermedad en progresión

11 (29%) lo hizo sola, y en 27 (71%) asociada: con Pgp en 5, con Lrp en 5 y en 17 con Pgp y Lrp a la vez. **Lrp:** De los 64 casos en que se expresó esta proteína, en 18 (28%) lo hace sola, y en 46 (72%) asociada: con Pgp en 24, con Mrp1 en 5 y en 17 con Pgp y Mrp1 a la vez. La tendencia de Pgp y Lrp a expresarse asociadas ha resultado muy significativa ($p<0.01$), no ocurrió lo mismo para la sociación Pgp y Mrp1 ($p=0.18$) o Mrp1 y Lrp ($p=0.26$).

TABLA VII

Supervivencia global y expresión de Pgp

Análisis de respuesta al tratamiento

De todos los casos registrados solamente en 17 pudieron ser adecuadamente evaluados en cuanto a la expresión de las proteínas y respuesta a quimioterapia (Tablas V y VI).

Solamente resultó significativo el análisis de la expresión de la Pgp referida a respuesta completa, respuesta parcial, enfermedad estable y progresión de la enfermedad (Tabla VII).

Discusión

Un primer mecanismo de resistencia a drogas en las células cancerosas, sería la reducción de la concentración intracelular de estas a nivel de su diana celular²⁶. Existen al menos dos estrategias celulares capaces de producir este efecto. Un segundo mecanismo podría ser el encargado de una redistribución intracelular anómala de la droga. Hasta la actualidad la mayoría de mecanismos asociados a la reducción de la concentración o una redistribución intracelular de la droga se han relacionado con proteínas transportadoras de membrana como Pgp y Mrp1 y con otra de más reciente descubrimiento y mecanismo de acción menos conocido, la llamada Lrp de localización citoplasmática²⁷⁻²⁹.

Los trabajos iniciales sobre MDR-proteínas en cáncer de pulmón estudiaban la expresión de Pgp y se realizaron hace ya varios años. Estos primeros estudios, salvo el publicado por Radosevich en 1989³⁰, detectaron una baja expresión de esta proteína, por lo que durante algunos años se aceptó como establecido que Pgp no se expresaba en cáncer de pulmón y por lo tanto no podía influir en el mal resultado de la quimioterapia. Posteriores estudios sobre muestras congeladas, de Beer y cols²⁷ y Scagliotti y cols³¹, encontraron una expresión del 35% y 41% respectivamente en pacientes con carcinomas de pulmón no célula pequeña. Nosotros hemos encontrado un 49% de expresión de Pgp, 51% si consideramos sólo los casos de carcinoma no célula pequeña, resultado parecido a lo publicado por estos autores y que confirma la existencia de una expresión relevante de Pgp en estos tumores. El abanico de resultados publicados para Mrp1 es más amplio, y se sitúa entre el 38% y el 88%, pero ninguno de los trabajos con un número considerable de casos utiliza tejido congela-

do. El resultado de nuestro estudio se sitúa en un nivel bajo para esta proteína, 38%, al igual que el de Sugawara y cols³². La proteína con mayor expresión ha sido Lrp, con 64% de casos.

En relación al grado de diferenciación histológica y aunque sin alcanzar significación, hemos observado que la expresión de cualquiera de las proteínas tiende a ser mayor en los tumores bien diferenciados que en los pobremente diferenciados. Algunos autores si que encontraron que esta disminución de expresión conforme el tumor se desdiferencia era significativa^{33, 34}. En relación a la histología, algunos estudios detectan una menor expresión de MDR-proteínas en los carcinomas indiferenciados de célula pequeña que en los de célula no pequeña, pero otros no. En nuestro estudio, las mujeres expresan menos Mrp1 que los hombres. Esto puede deberse a que 9 de las 14 mujeres presentaban adenocarcinomas, tipo histológico que ha resultado expresar muy poco esta proteína. No encontramos diferencias entre sexos para Pgp y Lrp, ni tampoco en cuanto al número de proteínas expresadas simultáneamente.

El aspecto más importante del estudio de las MDR-proteínas en cáncer es lógicamente su implicación en la respuesta a la quimioterapia. Mientras que en algunos tipos de tumores hematológicos esta implicación está claramente establecida, en tumores sólidos, los datos son muy variados y poco concluyentes a este respecto²⁹. Hasta la fecha, en cáncer de pulmón, no se puede excluir ni afirmar tal implicación, con los datos en relación a la respuesta quimioterápica y supervivencia. Existen publicados datos indirectos sobre la influencia de las MDR-proteínas en la respuesta a la quimioterapia en cáncer de pulmón. Algunos autores han encontrado un peor pronóstico en relación a la expresión de MDR-proteínas, en pacientes tratados con quimioterapia, sin poderse precisar si esto se debe a la resistencia al tratamiento o a otro efecto no conocido. Tal es el caso de lo reportado por Segawa y Tabata³⁵ sobre Pgp en carcinomas indiferenciados de célula pequeña, o por Ota y Oshika³⁶ para Mrp1 en carcinomas escamosos. Un pequeño estudio randomizado sobre la adicción de verapamil al tratamiento quimioterápico en 72 pacientes con carcinoma de pulmón no célula pequeña, encuentra mejor respuesta y supervivencia en aquellos pacientes que recibieron el modulador de Pgp³⁷.

En nuestra serie, solamente en la evaluación de los pocos casos en que ha sido posible realizarlo, la expresión de Pgp parece ofrecer un resultado significativo en cuanto a respuesta a la quimioterapia. Es evidente que un análisis más amplio de casos de acuerdo con ésta metodología es necesaria para obtener resultados concluyentes

En conclusión con los resultados de nuestro estudio podemos apoyar que el cáncer de pulmón parece expresar con frecuencia MDR-proteínas. De las tres MDR-proteínas estudiadas, Pgp Mrp1 y Lrp, es Lrp la más frecuentemente expresada. Los adenocarcinomas expresan menos Mrp1 mientras que los carcinomas escamosos expresan menos Lrp. Una proporción importante de pacientes expresan de forma simultánea más de una MDR-proteína. Los carcinomas escamosos, son los que con más frecuencia expresan Pgp, Mrp1 y Lrp de forma simultánea. La expresión de las tres MDR-proteínas estudiadas no presenta relación con factores pronósticos como el estadio y no influye en la supervivencia o el riesgo de recidiva. La expresión de Pgp y el número de proteínas expresadas simultáneamente, podrían afectar de forma negativa a la respuesta a la quimioterapia.

Correspondencia:
Dr. M. Echenique-Elizondo
Unidad Docente de Medicina de San Sebastián
Facultad de Medicina
Universidad del País Vasco
Paseo Dr. Beguiristain, 105
E-20014 San Sebastián (Guipúzcoa)
gepecelm@sc.ehu.es

Bibliografía

1. Beck WT, Dalton WS. Mechanisms of Drug Resistance. Cancer, Principles and Practice of Oncology, 5th Edition. Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. JB Lippincott Company, Philadelphia 1997: 498-512.
2. Chu E, DeVita VT. Principles of Cancer Management: Chemotherapy. Cancer, Principles and Practice of Oncology, 6th Edition. Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. JB Lippincott Company, Philadelphia 2001: 289-386.
3. Goldie JH, Coldman AJ. A mathematic model for relating the drug sensitivity of tumors to their spontaneous mutation rate. Cancer Treat Rep 1979; 63: 1727-1731.
4. Skipper HE, Simpson-Herren L. Relationship Between Tumor Stem Cell Heterogeneity and Responsiveness to Chemotherapy. Important Advances in Oncology 1985. Editado por VT DeVita, S Hellman y SA Rosenberg. JB Lippincott Company, Philadelphia 1985: 63-77.
5. Shepherd FA, Carney DN. Treatment of NSCLC: Chemotherapy. Textbook of Lung Cancer. Editado por Heine H Hansen. Martín Dunitz Ltd, London 2000: 213-242.
6. Nishio K, Nakamura T, Koh Y, et al. Drug resistance in lung cancer. Curr Opin Oncol 1999; 11: 109-115.
7. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. Cancer 1981; 47(1): 207-214.
8. Doyle LA. Mechanisms of Drug Resistance in Human Lung Cancer Cells. Semin Oncol 1993; 20: 326-337.
9. Tamm I, Schriever F, Dörken B. Apoptosis: implications of basic research for clinical oncology. Lancet Oncol 2001; 2: 33-42.
10. Bradshaw D, Arceci RJ. Clinical Relevance of Transmembrane Drug Efflux as a Mechanism of Multidrug Resistance. J Clin Oncol 1998; 16(11): 3674-3690.
11. Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug Resistance In Cancer : Role Of Atp-Dependent Transporters. Nature Reviews Cancer 2002; 2: 48-58.
12. 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.
13. Tan B, Piwnica-Worms D, Ratner L. Multidrug resistance transporters and modulation. Curr Opin Oncol 2000; 12: 450-458.
14. 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.
15. Plasencia C, Tarón M, Abad A, et al. Genes de quimiorresistencia. Manual de Oncología Clínica y Molecular. Editado por R. Rosell, A. Abad. M. Monzó. A. Barnadas. Arán Ediciones S.A. Madrid 2000: 145-159.
16. Dano K. Active outward transport of daunomycin in resis-

- tant Ehrlich ascitis tumor cells. *Biochim Biophys Acta* 1973; 323: 466-483.
17. 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.
 18. Borst P, Evers R, Kool M, et al. A Family of Drug Transporters: the Multidrug Resistance-Associated Proteins. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1295-1302.
 19. Jedlitschky G, Leier I, Buchholz U, et al. ATP-dependent transport of glutathione S-conjugates by the multidrug resistance-associated protein. *Cancer Res* 1994; 54: 4833-4836.
 20. Rappa G, Loico A, Flavell R, et al. Evidence that the multidrug resistance protein (MRP) functions as a co-transporter of glutathione and natural product toxins. *Cancer Res* 1997; 57:5232-5237.
 21. Carney DN, Shepherd FA. Treatment of SCLC: Chemotherapy. *Textbook of Lung Cancer*. Editado por Heine H Hansen. Martín Dunitz Ltd, London 2000: 261-272.
 22. Scheper RJ, Broxterman HJ, Scheffer GL, et al. Overexpression of a Mr 110.000 Vesicular Protein in Non-P-Glycoprotein-Mediated Multidrug Resistance. *Cancer Res* 1993; 53: 1475-1479.
 23. Slovak ML, Pelkey Ho J, Cole SPC, et al. The LRP gene encoding a major vault protein associated with drug resistance maps proximal to MRP on cromosoma 16 : Evidence that cromosoma breakage plays a key role in MRP or LRP gene amplification. *Cancer Res* 1995; 55: 4214-4219.
 24. Scheffer GL, Wijngaard PLJ, Flens MJ, Izquierdo MA, et al. The drug resistance-related protein LRP is the human major vault protein. *Nature Med* 1995;1: 578-582.
 25. 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.
 26. Boyle P, Gandini S, Gray N. Epidemiology of lung cancer: A century of great success and ignominious failure. *Textbook of Lung Cancer*. Editado por Heine H Hansen. Martín Dunitz Ltd, London 2000: 13-25.
 27. Beer TW, Rowlands DC, Crocker J. Detection of the multidrug resistance marker P-glycoprotein by immunohistochemistry in malignant lung tumors. *Thorax* 1996;51(5): 526-529.
 28. Simon MF, Schindler M. Cell biological mechanisms of multidrug resistance in tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994; 91, Abril: 3497-3504.
 29. Godstein LJ. MDR1 Gene Expression in Solid Tumours. *Eur J Cancer* 1996; 32A(6): 1039-1050.
 30. Radosevich JA, Robinson PG, Rittmann-Grauer LS, et al. Immunohistochemical analysis of pulmonary and pleural tumors with the monoclonal antibody HYB-612 directed against the multidrug-resistance (MDR-1) gene product P-glycoprotein. *Tumor Biol* 1989; 10: 252-257.
 31. Scagliotti GV, Novello S, Selvaggi G. Multidrug resistance in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 1999; 10 (Suppl. 5): S83-S86
 32. Choi JH, Lim HY, Joo HJ, et al. Expression of multidrug resistance-associated protein 1, P-glycoprotein, and thymidylate synthase in gastric cancer patients treated with 5-fluorouracil and doxorubicin-based adjuvant chemotherapy after curative resection. *Br J Cancer* 2002; 86(10): 1578-85.
 33. Zhou J, Higashi K, Ueda Y, et al. Expression of multidrug resistance protein and messenger RNA correlate with (99m)Tc-MIBI imaging in patients with lung cancer. *J Nucl Med* 2001 Oct; 42 (10): 1476-83.
 34. Volm M, Mattern J, Samsel B. Overexpression of P-glycoprotein and glutathione S-transferase-pi in resistant non-small-cell lung carcinomas of smokers. *Br J Cancer* 1991; 64(4): 700-704.
 35. Segawa Y, Ohnoshi T, Hiraki S, et al. Immunohistochemical Detection of P-glycoprotein and Carcinoembryonic Antigen in Small Cell Lung Cancer: With Reference to Predictability of Response to Chemotherapy. *Acta Med Okayama* 1993; 47: 181-189
 36. Ota E, Abe Y, Oshika Y, et al. Expression of the multidrug resistance-associated protein (MRP) gene in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 1995; 72: 550-554.
 37. Pennock GD, Dalton WS, Roeske WR, et al. Systemic toxic effects associated with high dose verapamil infusion and chemotherapy administration. *JNCI* 1991; 83: 105-110.