

Resistencia tumoral a múltiples agentes antineoplásicos mediada por glucoproteína P: del laboratorio a la clínica

Ramón González-Manzano

Departamento de Oncología. Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona.

Correspondencia: Dr. R. González-Manzano.
Departamento de Oncología.
Clínica Universitaria de Navarra.
Apdo. 192. 31080 Pamplona.

Introducción

Alrededor de un 90 % de todas las muertes por cáncer están influenciadas por la aparición, en algún momento de la evolución de esta enfermedad, de resistencia tumoral a los tratamientos citostáticos¹, por lo que la magnitud de este problema es considerable, teniendo en cuenta que el cáncer será, en unos años, una de las primeras causas de mortalidad².

Existen tumores con resistencia natural intrínseca a los citostáticos, y otros que a pesar de mostrar sensibilidad inicial a un régimen de quimioterapia, progresivamente se vuelven refractarios (resistencia adquirida).

Para estudiar las bases de la resistencia tumoral en el laboratorio se han seleccionado diversas líneas de células tumorales mediante la exposición a concentraciones crecientes de agentes citotóxicos³. Ante unas condiciones apropiadas de selección, las células pueden adquirir simultáneamente resistencia frente a un grupo diverso de fármacos de origen natural. Cuando se usa, por ejemplo, vincristina para seleccionar células resistentes, las células aisladas son no sólo resistentes a vincristina y a otros alcaloides de la vinca sino que también pueden tener resistencia cruzada con todos los fármacos de este grupo de productos naturales (tabla 1). Este fenómeno de resistencia simultánea a múltiples agentes diferentes no relacionados estructural o funcionalmente se ha denominado resistencia pleotrópica o MDR (del inglés multidrug resistance, resistencia a múltiples agentes). La MDR incluye la resistencia a muchos productos naturales aislados de microorganismos o de plantas, aunque no la resistencia a agentes de síntesis, como el cisplatino o los agentes alquilantes. Por tanto, si se puede inducir la expresión del fenotipo MDR en las células tumorales en cultivo en el laboratorio, la existencia en la clínica de este mecanismo podría explicar al menos en parte la resistencia tumoral observada a pautas de quimioterapia con múltiples agentes.

El descubrimiento de la glucoproteína P

El fenómeno MDR fue identificado *in vitro* por primera vez por Biedler y Riehm en 1970⁴, que comprobaron cómo células tumorales en cultivo seleccionadas con actinomicina D para adquirir resistencia frente a este agente, desarrollaban resistencia frente a un amplio grupo de agentes citotóxicos no relacionados estructural o funcionalmente, sin haber tenido exposición previa a los mismos. El primer indicio sobre la base bioquímica de este tipo de resistencia se debió a estudios que demostraron una menor acumulación de los fármacos en células con el fenotipo MDR⁵. Parecía que los agentes citotóxicos entraban en la célula por difusión pasiva a través de la membrana plasmática, pero estas células habían adquirido la capacidad de expulsarlos al exterior celular. La disminución en la acumulación de los agentes citotóxicos dependía de la producción de ATP en las células resistentes. Fueron Ling et al⁶ quienes comunicaron que las células resistentes a múltiples agentes seleccionadas con colquicina expresaban concentraciones altas de una glucoproteína de membrana de 170 kD, denominada glucoproteína P (g-P), que no estaba presente en las líneas celulares sensibles de las que derivaban⁷⁻⁹.

Existen otras evidencias que señalan al aumento en la expresión de la g-P como causante del fenómeno MDR. El hallazgo en un gran número de líneas celulares resistentes de amplificación del gen que codifica la g-P, la correlación del nivel de expresión de g-P con el grado de resistencia, la posibilidad de conferir el fenómeno MDR a líneas celulares sensibles mediante transferencia genética del ADN genómico y del ADNc de g-P procedente de líneas celulares resistentes, son algunas de ellas¹⁰. Una mutación que produzca un cambio de un único aminoácido en la estructura de la g-P puede conferir un fenotipo distinto de resistencia a fármacos¹⁰.

Estructura y función de la g-P

El gen que codifica la g-P, denominado *mdr1*, fue aislado en 1986 de una línea celular muy resistente a citostáticos procedente de un carcinoma de cérvix^{11,12}.

El gen *mdr1* humano se ha localizado en la porción proximal del brazo largo del cromosoma 7, específicamente en la banda 7q21-21.1 y, con frecuencia, se han descrito distintas alteraciones cromosómicas que acompañan a la adquisición del fenotipo MDR en líneas celulares tumorales humanas¹³.

El producto del gen *mdr1* es una proteína de 1.280 aminoácidos. Se deduce del análisis de la secuencia del ADNc que la g-P consiste en dos mitades casi idénticas. Cada mitad contiene un dominio hidrofóbico aminoterminal y un dominio hidrofílico carboxiterminal. Cada dominio hidrofóbico puede formar 6 regiones transmembrana, y cada dominio hidrofílico contiene 2 regiones que, juntas, forman un lugar para unión de nucleótidos trifosfato (ATP). La porción carboxiterminal de la g-P se encuentra en el lado citoplasmático de la membrana plasmática, al igual que los lugares de unión del ATP. Los 12 dominios transmembrana constituyen 6 pares, cada uno unido por un dominio extracelular de pequeña longitud. Además, existen lugares que pueden ser glucosilados en la primera región extracelular de la porción N-terminal¹⁴.

Secuencias homólogas con las regiones que se unen al ATP se han encontrado en diversas proteínas bacterianas, que forman parte de sistemas de transporte de una variedad de compuestos: oligopéptidos, ribosa, fosfato, histidina, maltosa, glutamina y otros^{12,14,15}. La similitud entre la proteína HIyB de *Escherichia coli* y la g-P es sorprendente, y afecta también a secuencias que no forman parte de las regiones que unen ATP¹⁶. HIyB transporta hacia el exterior una hemolisina. También se ha encontrado homología de otras proteínas de transporte no bacterianas con la g-P, que incluyen: una proteína de membrana relacionada con el transporte de pigmento ocular a través de la membrana plasmática en la mosca *Drosophila melanogaster*¹⁷, el producto del gen STE6 de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*¹⁸, el producto del gen responsable de la fibrosis quística¹⁹, y otros.

Esta homología con proteínas transportadoras, así como la observación constante *in vitro* de una reducción en la acumulación intracelular de fármacos característica de las células MDR, sugieren que la g-P tiene una función de transporte.

Existe también evidencia directa de que fármacos del fenotipo MDR se unen competitivamente a la g-P^{20,21}. Vesículas formadas por membranas aisladas procedentes de células MDR pueden transportar productos naturales como vinblastina. Además, la g-P purificada posee actividad de adenosintrifosfatasa, como era de esperar por la presencia de secuencias que unen nucleótidos en la estructura de la g-P²². Estos datos sugieren que la g-P funciona como una bomba transportadora hacia el exterior celular de una amplia gama de fármacos mediante un proceso que requiere energía. El transporte de fármacos puede ser una actividad más, entre otras, de la g-P, independiente de la posible existencia de una función fisiológica de transporte. Algunas observaciones apoyan esta hipótesis, como la capacidad de algunos inhibidores de la g-P, como los bloqueadores del calcio²³ o ciertos anticuerpos monoclonales²⁴, de dañar células que expresan g-P en ausencia de citostáticos. Este hecho puede significar que la g-P desempeña una importante función celular, aunque todavía no se conocen con certeza los sustratos fisiológicos de la g-P en las células humanas que la expresan.

En las células humanas hay un segundo gen *mdr*, denominado *mdr2* o *mdr3*. Aunque existe una gran homología en la secuencia de este segundo gen con el *mdr1*, experimentos en los que se inoculó mediante transfección el gen *mdr2* en células sensibles a fármacos del fenotipo MDR, no se consiguió inducir la aparición de resistencia en estas células²⁵.

Expresión de la g-P en tejidos humanos normales

Un indicio sobre la existencia de una función fisiológica de la g-P ha sido su presencia en diversos órganos y tejidos. Para su detección se han empleado métodos cuantitativos, como Northern y slot blots^{26,27}, Western blot^{28,29}, y métodos semicuantitativos, como la inmunohistoquímica mediante el empleo de anticuerpos monoclonales específicos que reconocen diferentes epítomos de la g-P. Se han usado los anticuerpos C-219, JSB-1, MRK-16, HYB-241, HYB-612 y otros³⁰⁻³⁸.

Se ha detectado la presencia de g-P en la cara biliar de los hepatocitos, en la superficie luminal de las células de los túbulos contorneados proximales del riñón, en las células epiteliales de la mucosa de la tráquea y de los bronquios principales, en la superficie

apical mucosa del intestino delgado y grueso, en los conductos pancreáticos y en menor medida en las células acinares del páncreas exocrino, glándulas sudoríparas y sus conductos (cara luminal), células de la corteza suprarrenal (que muestra una de las expresiones más altas del organismo humano), células epiteliales de las glándulas mamaria y prostática de los adultos, algunas glándulas endometriales, la placenta (trofoblasto), los capilares del sistema nervioso central, capilares del endoneuro de nervios periféricos, capilares testiculares, y capilares de la dermis papilar (no en la dermis reticular).

Es interesante destacar la presencia de g-P en los capilares de lugares que son considerados santuarios farmacológicos, como cerebro y testículo. Cordon-Cardo et al³⁰ han sugerido la presencia de g-P en estos lugares como causa de la dificultad de los fármacos del fenotipo MDR para penetrar en estos santuarios farmacológicos y, por tanto, como base para explicar la tendencia de la leucemia linfoblástica aguda para recaer en el SNC y testículos. Así mismo, la distribución de la g-P en la dermis podría explicar la alopecia producida por los agentes citotóxicos naturales, por su efecto sobre las células de los folículos pilosos que son vascularizados por el plexo capilar de la dermis reticular, que no expresa g-P, preservando los queratinocitos epidérmicos que son vascularizados por capilares de la dermis papilar, que expresan g-P.

La presencia de g-P en el trofoblasto placentario puede indicar que ésta puede desempeñar un papel importante en la barrera maternofoetal.

Recientemente se ha comprobado que la g-P puede transportar corticosterona³⁷, por lo que su abundante presencia en la corteza suprarrenal sugiere su papel transportador de esteroides en este tejido.

Resultados de un estudio clínico de fase I de la Universidad de Stanford sugieren la hipótesis de que la bilirrubina puede ser transportada por la g-P en la cara canalicular de los hepatocitos¹³².

Expresión de g-P en tumores humanos

La expresión de la g-P se ha determinado en muestras tumorales de pacientes con gran variedad de enfermedades neoplásicas.

Los siguientes tumores no tratados previamente expresan habitualmente una cantidad alta de g-P³⁸: cáncer renal, cáncer de colon, hepatocarcinoma, carcinoma suprarrenal y cáncer de páncreas. Estos tumores derivan de células y tejidos que normalmente expresan altas concentraciones de g-P. Existe una correlación entre el grado de diferenciación de los tumores renales y el nivel de expresión de la g-P. Los tumores pobremente diferenciados expresan menor cantidad de g-P³⁹. Además, recientemente se ha demostrado una correlación entre el grado de expresión del gen *mdr1* y subtipos histopatológicos de cáncer renal, encontrándose expresión alta en el carcinoma tubular, y prácticamente ausente en el carcinoma anaplásico⁴⁰.

La expresión del gen *mdr1* es ocasionalmente alta en los siguientes tumores no tratados previamente: leucemias agudas, linfomas, crisis blástica de leucemia mieloide crónica, carcinoma no microcítico de pulmón con caracteres neuroendocrinos, tumor carcinoide,

neuroblastoma, astrocitoma y feocromocitoma. En casi todos estos tumores normalmente el tejido de origen no expresa g-P.

Diversos tipos de tumores no tratados con anterioridad que tienen habitualmente bajos niveles de expresión de g-P suelen ser sensibles a la quimioterapia como el carcinoma de mama, ovario, el tumor de Wilms, carcinoma microcítico pulmonar, sarcoma de Ewing y sarcomas de partes blandas pediátricos. Sin embargo, algunos tumores resistentes a quimioterapia como los carcinomas no microcíticos de pulmón, melanomas, carcinoma de próstata, carcinoma de vejiga urinaria y sarcomas del adulto, no tienen una expresión elevada del gen *mdr1*, a pesar de ser resistentes en grado variable a los citostáticos. Esto significa que existen otros mecanismos de resistencia a citostáticos en tumores con baja expresión del gen *mdr1*. Es posible que estos mecanismos alternativos de resistencia actúen también en tumores que expresan un alto contenido de g-P, como se ha podido demostrar experimentalmente en hepatomas⁴¹.

Por otra parte, existen estudios en los que la determinación de la expresión del gen *mdr1* ha permitido demostrar la existencia de resistencia adquirida. Se ha observado un aumento en la expresión del gen después de tratamientos citostáticos en leucemias⁴², mielomas^{43,44}, linfomas⁴³, carcinomas de mama²⁷ y ovario⁴⁵, sarcomas²⁹ y neuroblastomas^{27,46} resistentes a los citostáticos.

Hasta el momento sólo 2 estudios en tumores pediátricos han aportado datos convincentes acerca del valor predictivo y pronóstico de la expresión de g-P en el éxito del tratamiento con quimioterapia en neuroblastomas⁴⁷ y sarcomas de partes blandas⁴⁸. En los 2 estudios se usan los anticuerpos monoclonales C219 y C494 como método de detección de la g-P, apreciándose que la supervivencia libre de recidiva y la supervivencia global eran significativamente superiores en pacientes con biopsias previas al tratamiento en las que no se detecta g-P, en comparación con aquellos con g-P detectable, de modo independiente a otros factores pronósticos conocidos. La g-P parecía ser el marcador pronóstico de tratamiento más significativo en estas enfermedades. A partir de estos estudios se puede especular si la g-P puede formar parte del proceso de progresión tumoral ya que pacientes cuyos tumores expresan g-P suelen tener un nivel más alto de expresión en las biopsias procedentes de las metástasis que en las del tumor primario. El mecanismo molecular causante de la expresión de la g-P es desconocido. En pacientes con neuroblastoma la amplificación del oncogén *N-myc* se asocia con los neuroblastomas avanzados⁴⁹, y se podría postular que una expresión aumentada de este oncogén podría modular directa o indirectamente la expresión de g-P⁵⁰. Esta posibilidad se está investigando actualmente.

A pesar de la correlación entre la expresión de g-P y la respuesta al tratamiento en estos tumores pediátricos, esto no es una evidencia definitiva de que cualquier tumor en el que se detecte la presencia de g-P, ésta constituya el factor más importante de la duración de la respuesta. Aparentemente en neuroblastomas y en sarcomas de partes blandas pediátricos que no desarrollan g-P, y que tienen una mayor supervivencia libre de enfermedad tal como lo demuestran los estudios comentados^{47,48}, no desarrollan otros mecanismos de resistencia no relacionados con la g-P.

Otros estudios recientes valoran la relación entre la expresión del gen *mdr1* y la respuesta a la quimioterapia, indicando que la expresión del gen *mdr1* en mielomas,

leucemias, linfomas, carcinoma renal, esofágico y de mama se asocia preferentemente con tumores que muestran resistencia clínica a citostáticos⁵¹⁻⁵⁴.

Se ha estudiado la expresión del ARNm del gen *mdr1* en más de 300 tumores diferentes, mediante una de las técnicas más sensibles: la reacción en cadena de la polimerasa (RCP)⁵⁵. Este estudio demostró nivel bajo de ARNm del gen *mdr1* en correlación con mejor respuesta inicial a la quimioterapia. Por ejemplo, en ninguna de las 6 muestras de sarcoma de Ewing analizadas se encontró un nivel detectable de ARNm del gen *mdr1*, mientras que casi todos los carcinomas no microcíticos de pulmón lo presentaban. Para determinar si los niveles bajos de expresión de ARNm *mdr1*, detectados mediante RCP eran predictivos de resistencia a la quimioterapia, se ha analizado la correlación entre la respuesta a la quimioterapia y los niveles de ARNm *mdr1* en más de 100 pacientes con carcinoma de ovario o pulmón⁵⁶.

Los resultados de este estudio demostraron una correlación muy significativa entre ausencia de expresión del ARNm *mdr1* y respuesta parcial a la quimioterapia. Esta correlación fue más evidente para carcinomas pulmonares de células pequeñas y carcinomas de ovario aunque no hubo correlación con la respuesta cuando los valores más bajos detectables de ARNm *mdr1* se consideraron como negativos. Este hecho parece indicar que los valores muy bajos de expresión del gen *mdr1* representan la expresión del gen en una subpoblación pequeña de células tumorales resistentes. También es interesante notar que la expresión del gen *mdr1* en este estudio y en otros^{48,51-53} ha demostrado correlación con la resistencia a regímenes de poliquimioterapia que no incluyen fármacos del fenotipo MDR. Todos estos datos sugieren que la presencia de g-P en algunos tipos de tumor caracteriza unas poblaciones celulares que han experimentado cambios que las hacen resistentes a diversos agentes antineoplásicos, desconociéndose la contribución de la g-P a esta resistencia multifactorial.

Estudios clínicos recientes han intentado también definir el significado clínico del aumento de expresión del gen *mdr1* en pacientes con leucemia en el momento del diagnóstico, y sugieren que podría ser apropiado incluir la expresión aumentada de *mdr1* entre los factores pronósticos adversos en la leucemia mieloide aguda⁵⁷⁻⁶⁰.

No existen, por el momento, estudios prospectivos que demuestren que la expresión aumentada del gen *mdr1* en leucemias que recaen tras un tratamiento eficaz inicial y se hacen resistentes a nuevos tratamientos con citostáticos, sea la causa de esta resistencia a múltiples agentes antineoplásicos.

Aunque estudios iniciales no demostraron la presencia de g-P en células normales de la médula ósea^{26,62}, publicaciones más recientes han mostrado la existencia de valores bajos de esta proteína en un subgrupo de células normales de la médula ósea, CD34+^{63,64}, y en otras subpoblaciones linfocitarias^{61,157}. Así mismo, se ha demostrado una correlación significativa entre la expresión de g-P y las células madre CD34+ en los síndromes mielodisplásicos⁶⁵ y las leucemias mieloides agudas⁶⁰. Estos hallazgos indican que el fenómeno MDR en los síndromes mielodisplásicos se encuentra unido estrechamente a un fenotipo de células madre que puede contribuir a la resistencia a la quimioterapia en estas enfermedades. Por otra parte, en el estudio citado en pacientes con LMA en el momento del diagnóstico⁶⁰, la presencia de la asociación entre expresión

de g-P y el fenotipo CD34 puede sugerir que la expresión de g-P sea más común en leucemias que derivan de células pobremente diferenciadas.

Agentes que pueden revertir la resistencia mediada por g-P

Numerosos fármacos y sustancias que no tienen actividad antineoplásica son sustratos de la g-P y, por lo tanto, pueden inhibir el transporte al exterior de agentes antineoplásicos (tabla 2). Desde que Tsuruo et al en 1981⁶⁶ describieron que el verapamilo podía restaurar la sensibilidad a los alcaloides de la vinca in vitro e in vivo en la leucemia P388 resistente a vincristina, muchas publicaciones han demostrado in vitro esta misma capacidad de restaurar parcial o totalmente la resistencia mediada por g-P para otros fármacos o agentes a diferentes concentraciones. Estos agentes que pueden revertir la resistencia a múltiples citostáticos tienen diferentes estructura y función, y pertenecen a distintos grupos farmacológicos, como puede verse en la tabla 2. El mecanismo de acción más frecuente de estos moduladores es aumentar la acumulación y la retención intracelular de los agentes antineoplásicos mediante unión competitiva con la g-P⁸²⁻⁸⁴ que desplaza a los agentes antineoplásicos, sustratos también de la g-P^{85,86}. Algunos de estos moduladores también se ha comprobado in vitro que pueden inducir cambios en la distribución subcelular de los agentes antineoplásicos⁸⁷ y provocar cambios en el pH citoplásmico de células tumorales resistentes⁸⁸, entre otros posibles mecanismos⁸⁹.

Las concentraciones óptimas capaces de revertir la resistencia mediada por la g-P in vitro de los diferentes moduladores, en algunos casos son tóxicas clínicamente. Así, por ejemplo, la concentración óptima de verapamilo in vitro es de 3 a 6 μM ⁹⁰, y en la clínica el máximo nivel alcanzado, con toxicidad cardiovascular importante (hipotensión y trastornos severos aunque reversibles de la conducción), es de 1 a 2 μM ^{91,92}. Este es un factor importante al diseñar estudios clínicos con moduladores de la resistencia.

También deben considerarse otros factores. La expresión de la g-P en los tejidos normales puede ser afectada por el modulador y por tanto resultar en toxicidad específica sobre estos tejidos y órganos. La duración de la exposición del modulador debe ser adecuada para alcanzar concentraciones óptimas en estado de equilibrio antes de la quimioterapia. Deben realizarse estudios para conocer si la concentración plasmática de los moduladores se correlaciona con la alcanzada en los tejidos tumorales. Consideraciones farmacocinéticas también deben tenerse en cuenta; por ejemplo, se ha comprobado que la eliminación y vida media de algunos citostáticos pueden variar en presencia de un modulador^{93,94}. Estos y otros factores como el grado de unión a las proteínas y la eficacia de los metabolitos⁹⁰, constituyen el entramado del complejo fenómeno farmacocinético que supone el uso clínico de los moduladores, y la dificultad de usar un modelo único en el planteamiento de un estudio clínico.

Por otra parte, no se puede olvidar que algunos tumores que expresan g-P pueden tener otros mecanismos de resistencia, que dificulten la interpretación de los resultados. Es recomendable determinar en muestras tumorales la presencia de la g-P mediante los métodos disponibles más adecuados al tipo de tumor.

Para evitar algunas de las toxicidades de los moduladores se han desarrollado anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos de superficie de la g-P (MRK-16,

HYB-241, UIC-2). Éstos han demostrado eficacia en sistemas experimentales⁹⁵⁻⁹⁹. Además de revertir la resistencia mediada por g-P, los anticuerpos monoclonales pueden ejercer efectos citotóxicos directos. Hamada y Tsuruo⁹⁶ demostraron que el anticuerpo MRK-16 inhibía el crecimiento de una línea celular tumoral trasplantada en ratones atímicos, en ausencia de agentes antitumorales, mediante citotoxicidad mediada por complemento y citotoxicidad celular mediada por anticuerpos. Otra posibilidad interesante es el uso de agentes citotóxicos conjugados con anticuerpos monoclonales para eliminar tumores que expresen la g-P. Fitzgerald et al emplearon una toxina de *Pseudomonas* conjugada con el anticuerpo monoclonal MRK-16, demostrando que esta inmunotoxina era eficaz para destruir selectivamente células tumorales que expresaban g-P¹⁰⁰. Todavía tienen que resolverse algunos problemas para el uso clínico seguro de anticuerpos monoclonales anti g-P como su rápida eliminación del organismo tras su administración, la estimulación de la respuesta inmune sobre todo si se trata de anticuerpos murinos y las reacciones tóxicas que pueden acompañar su administración¹⁰¹. Hasta la fecha no se ha publicado ningún estudio clínico con anticuerpos monoclonales anti g-P.

Resultados clínicos del empleo de moduladores de la resistencia mediada por g-P

Se han llevado a cabo estudios clínicos de fase I y II con diversos moduladores de la resistencia, aunque al tratarse en su mayoría de estudios no controlados es difícil extraer conclusiones definitivas de los mismos.

Los agentes más empleados son los antagonistas del calcio, especialmente verapamilo. En 1985 Benson et al¹⁰² llevaron a cabo un estudio de fase I combinando verapamilo y vinblastina en infusión continua en 17 pacientes. No se observó ninguna respuesta objetiva, y se alcanzaron concentraciones de verapamilo muy por debajo de las necesarias para revertir la resistencia *in vitro* (3 µg/ml). La combinación de verapamilo y adriamicina en 8 pacientes con carcinoma de ovario resistente tampoco produjo ninguna respuesta objetiva, produciéndose, en cambio, toxicidad cardiovascular severa (hipotensión, bloqueo de conducción cardíaca)¹⁰³. En niños con leucemia linfoblástica aguda refractaria a vincristina, se intentó restaurar la sensibilidad a vincristina con diltiazem. Se consiguió un efecto citolítico, aunque no se objetivó ninguna respuesta¹⁰⁴. Presant et al en un estudio piloto de fase I-II en 13 pacientes con tumores sólidos resistentes a adriamicina, consiguieron algunas respuestas transitorias (3 de 8 pacientes) al combinar adriamicina y verapamilo oral, observando también cardiotoxicidad¹⁰⁵. Mejores resultados se han obtenido con verapamilo en tumores hematológicos. Cairo et al¹⁰⁶, en pacientes con leucemia pediátrica refractaria, observaron algunas remisiones parciales, con disminución del tanto por ciento de blastos leucémicos, con verapamilo en infusión continua y vinblastina en bolos, seguida de una infusión continua de etopósido durante 5 días. En 6 de 11 ciclos administrados, se produjo cardiotoxicidad. Durie y Dalton en 1988¹⁰⁷ publican el caso de un paciente con mieloma múltiple resistente a vincristina, adriamicina y dexametasona que respondió tras incorporar verapamilo oral a la misma quimioterapia. Posteriormente se publicaron 3 estudios piloto en pacientes con mieloma múltiple refractario usando verapamilo. Gore et al observaron algunas respuestas de corta duración que parecían correlacionarse con la presencia de g-P¹⁰⁸. Dalton et al⁹² de la Universidad de Arizona trataron 7 pacientes con mieloma múltiple y uno con linfoma no hodgkiniano con el esquema VAD (vincristina y adriamicina en infusión i.v. continua y dexametasona) más verapamilo i.v. en infusión

continua. Siete de los 8 pacientes habían progresado previamente a VAD. Seis expresaban g-P, y tres (dos con mieloma múltiple y uno con linfoma no hodgkiniano) de éstos obtuvieron respuesta de corta duración aunque tenían concentraciones séricas relativamente bajas de verapamilo. El tercer estudio es el de Trumper et al¹⁰⁹ que también administra a 10 pacientes refractarios a VAD la misma pauta más verapamilo i.v. y únicamente encuentra una remisión objetiva. En este estudio la duración de la infusión de verapamilo fue más corta y la dosis total menor que en el estudio de Dalton et al. No se determinó la presencia de g-P. Actualmente, el South West Oncology Group (SWOG) está realizando un estudio aleatorizado comparando VAD y VAD más verapamilo en pacientes con mieloma múltiple refractario a primera línea de quimioterapia.

En linfomas también se han realizado varios estudios con dosis altas de verapamilo i.v. En la Universidad de Arizona 18 pacientes con linfoma previamente tratado y resistente a quimioterapia se trataron con el esquema CVAD (ciclofosfamida, vincristina, adriamicina, dexametasona) más verapamilo en infusión i.v. continua de 5 días⁹¹. Trece de 18 respondieron al tratamiento. No se demostró correlación entre la presencia de g-P y la respuesta, aunque uno de ellos, en progresión al CVAD en el momento de entrar en el estudio, obtuvo una remisión completa al añadir verapamilo a dosis altas a la misma quimioterapia. Se están realizando otros estudios con linfomas, aunque han sido pocos los pacientes incluidos para ser evaluables¹¹⁰.

Verapamilo se ha estudiado también en tumores sólidos. Lower y Preisler¹¹¹ trataron pacientes con carcinoma de mama metastásico con vinblastina más la adición de verapamilo y clorocina orales. Estos autores, entre 13 enfermas previamente tratadas, encontraron 4 remisiones objetivas. Además, trataron a 3 enfermas que se encontraban en progresión a tratamiento con vinblastina sola en infusión continua, encontrando una remisión completa tras la adición de clorocina y verapamilo al mismo esquema.

En pacientes con carcinoma de pulmón también se han realizado estudios usando verapamilo como modulador. Figueredo et al¹¹² trataron a 58 enfermos con carcinoma microcítico de pulmón, enfermedad extensa, con una combinación de 3 citostáticos y verapamilo más tamoxifeno, ambos orales durante 3 días. Obtuvieron un 58 % de remisiones objetivas con una supervivencia media de 46 semanas. Se han llevado a cabo 3 estudios aleatorizados en pacientes con carcinoma de pulmón⁹⁰. Dos de ellos todavía no han publicado sus resultados definitivos, y el tercero, realizado en Glasgow, ha finalizado. Se han incluido en este último 220 enfermos con carcinoma microcítico de pulmón.

El grupo control recibió quimioterapia sola (con 4 agentes), y el grupo experimental, la misma quimioterapia más verapamilo, 480 mg diarios orales durante 3 días, antes de iniciar la quimioterapia. Las concentraciones de verapamilo estuvieron alrededor de 1 µM. No se demostraron diferencias significativas en la tasa de respuestas entre ambos grupos (un 83 % en el grupo con verapamilo y un 80 % en el grupo control). Tampoco se observaron diferencias significativas en la supervivencia media entre los 2 grupos, aunque había una tendencia a una mejor mediana de supervivencia para los pacientes con enfermedad extensa tratados con verapamilo y quimioterapia (32 frente a 22 semanas).

De los estudios con verapamilo comentados hasta ahora, está claro que este fármaco no puede administrarse a las concentraciones adecuadas para revertir la resistencia pleiotrópica *in vitro*, debido a su potente efecto sobre el sistema cardiovascular. Una alternativa atractiva al uso actual de verapamilo (que es una mezcla racémica de isómeros RS) es el empleo del isómero R del verapamilo, que posee la misma capacidad de revertir la resistencia que la mezcla racémica, pero es por lo menos tres veces menos tóxico sobre el sistema cardiovascular¹¹³. Se han iniciado estudios clínicos con el verapamilo R^{110,114}, con resultados preliminares alentadores.

Además de verapamilo, se han probado en la clínica otros antagonistas del calcio. Nifedipino en combinación con VP-16 no produjo ninguna respuesta objetiva en 15 pacientes (ocho de los cuales habían recibido quimioterapia previa) con tumores sólidos resistentes¹¹⁵. En este estudio la toxicidad cardiovascular fue la limitante de dosis del modulador, e impidió alcanzar la concentración adecuada que *in vitro* revierte la resistencia pleiotrópica. También se empleó nifedipino más vinblastina y epirubicina para tratar de revertir la resistencia de pacientes con tumores renales metastásicos con malos resultados: una remisión parcial de 11 pacientes evaluables¹¹⁶. Se ha demostrado experimentalmente que nifedipino actúa sinérgicamente con cisplatino para aumentar significativamente su efecto antitumoral, aunque este efecto es independiente de su acción sobre los canales del calcio o sobre la g-P¹¹⁷.

El bepridil, un antagonista del calcio que *in vitro* es igual de efectivo que verapamilo para revertir la resistencia mediada por g-P, a concentraciones que pueden conseguirse en la clínica sin toxicidad, ha entrado en estudios clínicos. En un estudio piloto con 14 pacientes con tumores resistentes a combinaciones de quimioterapia que contienen adriamicina, no se observó toxicidad cardíaca ni actividad moduladora de la resistencia¹¹⁸.

Los antagonistas de la calmodulina también pueden revertir la resistencia mediada por g-P. Miller et al trataron a 36 pacientes con adriamicina en infusión continua (dosis de 60 mg/m²) más trifluoperazina¹¹⁹. Todos los pacientes tratados eran resistentes a adriamicina y de los 36 tratados respondieron siete. Las dosis de trifluoperazina se escalaron desde 20 hasta 100 mg diarios por vía oral. La dosis máxima tolerada fue de 60 mg/día, siendo la toxicidad limitante de dosis los efectos extrapiramidales. Las concentraciones plasmáticas alcanzadas de trifluoperazina se encontraban de 10 a 100 veces por debajo de los adecuados *in vitro* para revertir la resistencia.

Otro modulador que se ha ensayado en clínica es el tamoxifeno. Un estudio de fase I ha demostrado que se pueden alcanzar concentraciones plasmáticas eficaces para revertir *in vitro* la resistencia pleiotrópica. Trump et al¹²⁰ trataron a 48 pacientes con tumores sólidos avanzados con vinblastina en infusión i.v. continua de 5 días y tamoxifeno dos veces al día por vía oral por 13 días, escalando dosis desde 150 mg/m² a 260 mg/m² bid, y comenzando 8 días antes que la vinblastina. La toxicidad limitante de dosis del tamoxifeno fue neurológica por aparición de temblor, alteraciones de la marcha, etc., aunque fue rápidamente reversible al suspender el tratamiento. Los autores observaron actividad antitumoral con este régimen. Resultados preliminares del grupo de Newcastle (Inglaterra) con la combinación de tamoxifeno a dosis altas y VP-16 oral fueron alentadores¹²¹, aunque publicaciones más recientes han demostrado poca actividad para este régimen¹²².

El antiarrítmico cardíaco amiodarona puede revertir la resistencia mediada por g-P in vitro, con concentraciones (2 μM) que pueden alcanzarse en la clínica. Además, a concentraciones equimolares, es más efectiva que verapamilo para revertir la resistencia in vitro¹²³. La amiodarona tiene un gran volumen de distribución y se une con una gran afinidad a algunos tejidos del organismo, incluyendo entre ellos el corazón, el hígado, el páncreas, la grasa, etc. El Instituto Nacional del Cáncer americano ha iniciado estudios con amiodarona y adriamicina o vinblastina en pacientes con carcinoma de mama previamente tratadas con quimioterapia¹²⁴. Con dosis de mantenimiento de 600 a 800 mg diarios, todas las pacientes alcanzaron concentraciones plasmáticas óptimas. Se obtuvieron biopsias previas al tratamiento; en las que presentaban g-P positiva mediante inmunohistoquímica, ésta no predecía la respuesta al tratamiento, pero se correlacionó con una duración media en el estudio más breve. Todas las pacientes que expresaban g-P habían recibido tratamientos previos con agentes naturales. La amiodarona no aumentó la toxicidad de adriamicina ni de vinblastina. De 16 pacientes evaluables se obtuvieron remisiones parciales en seis.

Otro agente antiarrítmico, la quinidina, se está empleando en la clínica. También con este fármaco se pueden alcanzar concentraciones óptimas sin excesiva toxicidad¹²⁵. Por este motivo se está realizando un estudio aleatorizado en cáncer de mama avanzado con epirrubicina y quinidina 250 mg bid por vía oral cada 3 semanas. La quinidina se inicia 4 días antes que cada bolo de epirrubicina. Se compara este tratamiento con epirrubicina más placebo. En los 2 grupos la toxicidad es similar, y en el grupo con quinidina se pueden lograr concentraciones adecuadas en el tumor (valorado en algunos pacientes mediante biopsia), a pesar del alto grado de unión a proteínas plasmáticas de la quinidina¹²⁶. Sin embargo, aunque no se incrementó la toxicidad en el estudio comentado, en otro estudio de fase I con quinidina y vinblastina en 23 pacientes con carcinoma renal avanzado, se aprecia una tendencia a presentar un mayor grado de leucopenia con dosis más altas de quinidina, para una dosis constante de vinblastina¹²⁷.

Agentes inmunosupresores como ciclosporina A (CsA) se han usado como moduladores de la resistencia. Se han publicado numerosos estudios de fase I con CsA y diversos agentes antineoplásicos (adriamicina VP-16, vinblastina, mitoxantrona y otros), que demuestran que la combinación es factible con una toxicidad moderada aunque aceptable¹²⁸⁻¹³⁵. En estos estudios se han podido alcanzar concentraciones séricas de CsA similares a las necesarias in vitro para revertir la resistencia (1 a 5 μM). El uso de CsA de modo crónico en pacientes que han recibido un trasplante de órganos se asocia a toxicidades específicas de la CsA como nefrotoxicidad, hipertensión arterial, neurotoxicidad, etc. Además, se consigue la inmunosupresión de los pacientes sometidos a estos tratamientos crónicos, con el riesgo consiguiente de infecciones oportunistas. Sin embargo, la administración de CsA a las dosis altas intermitentes necesarias para revertir la resistencia no se asocia a inmunosupresión significativa¹³¹. Así mismo, el perfil de toxicidades en esta forma de administración es algo diferente al que se obtiene con su uso crónico. La toxicidad principal que se aprecia en relación con la dosis de CsA es hiperbilirrubinemia transitoria, que puede suceder hasta en el 80 % de los ciclos con concentraciones de 2 μM o superiores de CsA¹³². La mielotoxicidad de la combinación de CsA y quimioterapia puede estar aumentada, lo que parece deberse a interacciones farmacocinéticas entre CsA y algunos agentes antineoplásicos, por lo que la combinación puede requerir una reducción de la dosis planeada del citostático^{94,131,132,135}. No se puede descartar la contribución que puede tener la presencia de g-P en las células madre hematopoyéticas, que por efecto modulador de CsA pueden

ser más sensibles a la quimioterapia, tal como se ha podido demostrar experimentalmente¹³⁶. Otras toxicidades comunicadas en estos estudios de fase I han incluido alteraciones leves y reversibles en el aclaramiento de creatinina en un pequeño tanto por ciento de pacientes^{129,132}, si bien algunos investigadores no han encontrado nefrotoxicidad¹³⁴, hipomagnesemia reversible ni cefalea^{131,132}. La neurotoxicidad de fármacos como la vincristina puede incrementarse cuando se usa en combinación con altas dosis de CsA¹³⁷.

El uso de CsA como modulador de la resistencia ha demostrado actividad en el tratamiento de tumores hematológicos resistentes. Yahanda et al¹³² en un estudio de fase I con CsA y etopósido apreciaron dos remisiones objetivas, una en un paciente con enfermedad de Hodgkin y otra en un paciente con un linfoma de bajo grado, ambos resistentes a etopósido. Un estudio europeo del grupo de leucemias de la EORTC y del HOVON (Dutch Haematology-Oncology Group) en que se incluyeron 21 pacientes con mielomas múltiples, seis refractarios a quimioterapia de primera línea y 15 resistentes a VAD, el uso del mismo esquema VAD junto con una infusión continua i.v. de CsA de 108 horas (a 3 concentraciones de dosis: 5, 7,5 y 10 mg/kg/día), proporcionó un 48 % de remisiones objetivas¹³⁸. Todos los pacientes que recibieron dosis de ciclosporina A de 7,5 o 10 mg/kg/día alcanzaron concentraciones adecuadas para modular la resistencia a múltiples agentes. La tasa de respuestas fue mayor en aquellos pacientes que expresaban el gen *mdr1*, determinado mediante inmunohistoquímica con los anticuerpos monoclonales C219 y JSB1. La toxicidad del tratamiento fue leve y reversible, y no incluyó efectos secundarios cardiovasculares o nefrotóxicos severos. De 8 pacientes con *mdr1*+ antes del tratamiento en los que se disponía de determinaciones de la g-P después del tratamiento, seis no tenían expresión del gen *mdr1* en las células mielomatosas 4 semanas después del tercer ciclo de quimioterapia. Los autores concluyen que en pacientes con mieloma múltiple la resistencia a VAD puede vencerse con CsA, que permite a los agentes citotóxicos eliminar las células malignas mielomatosas resistentes.

Se han obtenido también resultados preliminares alentadores en leucemias agudas resistentes^{135,139}. Marie et al¹³⁵ comunican 6 remisiones objetivas (dos completas y cuatro parciales) entre 17 pacientes con leucemias agudas resistentes o recidivadas, con la combinación de CsA en infusión continua simultánea con infusión continua de mitoxantrona y etopósido. Hubo 2 muertes por sepsis. List et al¹³⁹ obtienen una tasa de respuestas del 73 % en 21 pacientes evaluables con leucemias agudas de alto riesgo (mieloides refractarias y recidivadas, mieloides evolucionadas de síndromes mielodisplásicos, mieloides relativas a tratamientos oncológicos previos, fases blásticas de LMC y otras). El tratamiento consistió en uno secuencial con dosis altas de ara-C y daunomicina, administrando una infusión continua i.v. de CsA de 3 días simultánea con la daunomicina. Se demuestra la posibilidad de erradicar las células leucémicas *mdr1*+ con este tratamiento. Debido a la actividad demostrada por este régimen en LMA de alto riesgo, se ha planeado la realización de un estudio de fase III por el SWOG.

También se han publicado resultados preliminares interesantes en el tratamiento con CsA y quimioterapia de algunos pacientes con tumores pediátricos^{140,141}. Aunque la casi totalidad de los estudios comentados han utilizado CsA i.v. algunos autores han preferido la vía oral¹³⁴. Esta vía de administración puede ser poco apropiada por la reciente descripción de un importante metabolismo de primera pasada en el intestino delgado, que podría explicar la pobre biodisponibilidad de la CsA por vía oral¹⁴².

Otros moduladores que se han descubierto de modo empírico pueden tener utilidad clínica, y algunos han entrado en estudios clínicos como la cefoperazona y la quinina^{143,144}.

Conclusiones y perspectiva futura

Los estudios clínicos de MDR y su relación a la expresión aumentada de g-P han hecho en muy poco tiempo aportaciones básicas y clínicas fundamentales en el tratamiento de leucemias, linfomas y mieloma múltiple que, sin duda, se reflejarán en nuevas estrategias terapéuticas en los próximos años y posiblemente, cuando las investigaciones clínicas progresen, en la tasa de remisiones completas y en la supervivencia. Los datos de estudios clínicos preliminares señalan con elocuencia el interés de esa dirección.

Aunque inicialmente el descubrimiento de moduladores de la resistencia fue empírico, ya se conocen algunas bases moleculares de las interacciones entre fármacos moduladores y la g-P, que son válidas para el diseño de nuevos fármacos más específicos, más activos y menos tóxicos¹⁴⁵. En este sentido se ha observado, por ejemplo, que las propiedades inmunosupresoras de la CsA se ejercen por mecanismos distintos al efecto modulador de la resistencia. Por este motivo se han creado análogos de ciclosporina que carecen de la parte de su molécula que condiciona el efecto inmunosupresor, y que además han demostrado ser *in vitro* e *in vivo* moduladores más potentes que la propia CsA¹⁴⁶⁻¹⁴⁸.

Uno de estos análogos no inmunosupresores, el PSC-833, ha entrado en el año 1992 en estudios clínicos en Europa. Otros nuevos compuestos también han demostrado experimentalmente una potente actividad moduladora de la resistencia y son candidatos a entrar en estudios clínicos¹⁴⁹. Otra posibilidad es la combinación de más de un modulador, habiéndose encontrado sinergismo a concentraciones más bajas de cada uno de los moduladores que las necesarias cuando se usan por separado para revertir la resistencia^{150,151}.

El conocimiento del mecanismo de acción de la resistencia a fármacos mediada por g-P también permite investigar nuevos citostáticos que no son afectados por su hiperexpresión. De esta manera, la observación de que g-P expulsa preferentemente productos naturales hidrofóbicos de carga positiva puede permitir el desarrollo de análogos más insensibles al fenómeno MDR. Por otra parte, algunos fármacos citotóxicos en estudio no son afectados por la presencia de g-P, tal como ocurre con los alcaloides de camptotecina y sus análogos¹⁵². Parece evidente que una característica de gran interés en el estudio de nuevos agentes antitumorales es la circunvención de la MDR.

Debido a que la toxicidad limitante de dosis de la mayoría de tratamientos de quimioterapia es la mielosupresora, se ha pensado en la posibilidad de conferir el fenotipo MDR a células mielopoyéticas progenitoras mediante transferencia del gen *mdr1* a través de vectores retrovirales. Esta transferencia se realizaría extrayendo la médula ósea normal de pacientes en tratamiento, e introduciendo en estas células el gen *mdr1*, y reinfundiéndolas posteriormente, lo que ha podido realizarse en estudios experimentales en animales. Como ya se comentó anteriormente las células eritroides y

mieloides de la médula ósea no expresan cantidades importantes de g-P. Mickisch et al han generado ratones transgénicos cuyas células de la médula ósea expresan de modo constitutivo el ADNc *mdr1* humano. Estos ratones expresan ARN del gen *mdr1* en su médula ósea a concentraciones comparables con los hallados en los tejidos humanos normales y en los tumores^{153,154}, y son resistentes a la leucopenia inducida por agentes naturales antineoplásicos del fenotipo MDR. De hecho, con estos experimentos se ha generado un modelo válido para investigar in vivo en estos ratones, antes de entrar en estudios clínicos humanos, la utilidad y efectividad de nuevos moduladores de resistencia mediada por g-P^{154,155}. Debido a la expresión de g-P en las células de la médula ósea, los ratones están protegidos frente a la leucopenia inducida por dosis habituales de agentes naturales. En presencia de un modulador se provocará un descenso del número de leucocitos, lo que indica que dicho modulador es efectivo. Se ha comprobado que estas células de la médula ósea de ratones transgénicos que expresan g-P pueden trasplantarse a ratones normales, confiriéndoles protección contra la quimioterapia¹⁵⁶. Este hecho puede ser aplicado para proteger la médula ósea en protocolos de altas dosis de quimioterapia con trasplante de médula ósea en clínica humana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Young RC. Drug resistance: The clinical problem. En: Ozols RF, editor. Drug resistance in cancer therapy. Boston: Kluwer Academic, 1989; 1-12.
2. Henderson BE, Ross RK, Pike MC. Toward the primary prevention of cancer. *Science* 1991; 254: 1.131-1.138.
3. Beck VVT, Danks MK. Characteristics of multidrug resistance in human tumor cells. En: Roninson IB, editor. Molecular and cellular biology of multidrug resistance in tumor cells. Nueva York: Plenum Press, 1991; 3-55.
4. Biedler JL, Riehm H. Cellular resistance to actinomycin D in Chinese hamster cells in vitro: Cross-resistance, radioautographic, and cytogenetic studies. *Cancer Res* 1970; 30: 1.174-1.184.
5. Dano K. Active outward transport of daunomycin in resistant Ehrlich ascites tumor cells. *Biochem Biophys Acta* 1973; 323: 466-483.
6. Ling V, Thompson LH. Reduced permeability in CHO cells as a mechanism of resistance to colchicine. *J Cell Physiol* 1974; 83: 103-116.
7. Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta* 1976; 455: 152-162.
8. Bech-Hansen NT, Till JE, Ling V. Pleiotropic phenotype of colchicine-resistant CHO cells: cross-resistance and collateral sensitivity. *J Cell Physiol* 1976; 88: 23-31.
9. Kartner N, Riordan JR, Ling V. Cell surface P-glycoprotein associated with multidrug resistance in mammalian cell lines. *Science* 1983; 221: 1.285-1.287.
10. Deuchars KL, Ling V. P-glycoprotein and multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Semin Oncol* 1989; 16: 156-165.
11. Roninson I, Chin JE, Choi K et al. Isolation of the human MDR DNA sequences amplified in multidrug-resistant KB carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4.538-4.542.
12. Chen CJ, Chin JD, Ueda K et al. Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in the *mdr1* (P-glycoprotein) gene from multidrug-resistant human cells. *Cell* 1986; 47: 381-389.

13. Trent JM, Callen DF. Chromosome localization of P-glycoprotein genes in drug-sensitive and -resistant human cells. En: Roninson IB, editor. *Molecular and cellular biology of multidrug resistance in tumor cells*. Nueva York: Plenum Press, 1991; 169.
14. Gerlach JH, Endicott JA, Juranka PF et al. Homology between P-glycoprotein and a bacterial haemolysin in transport protein suggest a model for multidrug resistance. *Nature (Lond)* 1986; 324: 485-489.
15. Gros P, Croop J, Honsman D. Mammalian multidrug resistance gene: complete cDNA sequence indicates strong homology to bacterial transport proteins. *Cell* 1986; 47: 371-380.
16. Felmler T, Pellet S, Welch RA. Nucleotide sequence of an Escherichia Coli chromosomal hemolysin. *J Bacteriol* 1985; 163: 94-105.
17. O'Hare K, Murphy C, Levis R, Rubin GM. DNA sequence of the white locus of *Drosophila melanogaster*. *J Mol Biol* 1984; 180: 437-455.
18. Mc Grath JP, Varshavsky A. The yeast STE6 gene encodes a homologue of the mammalian multidrug resistance P-glycoprotein. *Nature (Lond)* 1989; 340: 400-404.
19. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245: 1.066-1.073.
20. Safa AR, Mehta ND, Agresti M. Photoaffinity labeling of P-glycoprotein in multidrug-resistant cells with analogs of colchicine. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 162: 224-231.
21. Safa AR, Glover CJ, Meyers MB, Biedler JL, Felsted RL. Vinblastine photoaffinity labeling of a high molecular weight surface membrana glycoprotein specific for multidrug resistance cells. *J Biol Chem* 1986; 261: 6.137-6.140.
22. Cornwell MM, Pastan I, Gottesman MM. Binding of drugs and ATP by P-glycoprotein and transport of drugs by vesicles from human multidrug-resistant cells. En: Roninson IB, editor. *Molecular and cellular biology of multidrug resistance in tumor cells*. New York: Plenum Press, 1991; 229-242.
23. Warr JR, Anderson M, Fergusson J. Properties of verapamil hypersensitive multidrug resistant Chinese hamster ovary cells. *Cancer Res* 1988; 48: 4.477-4.483.
24. O'Brien JP, Spengler BA, Rittman-Grauer L, Bertino JR, Biedler JL. Collateral sensitivity of human multidrug-resistant cells to verapamil is potentiated by monoclonal antibody HYB-241 recognizing P-glycoprotein [resumen]. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1989; 30: 531.
25. Van der Blik AM, Kooiman PM, Schneider C, Borst P. Sequence of mdr3 cDNA encoding a human P-glycoprotein. *Gene* 1988; 71: 401.
26. Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ, Poplack DG, Gottesman MM, Pastan I. Expression of a multidrug-resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Nati Acad Sci USA* 1987; 84: 265.
27. Goldstein LJ, Galshi H, Fojo AT et al. Expression of a multidrug-resistance gene in human cancers. *J Nati Cancer inst* 1989; 81: 116.
28. Bell DR, Gerlach JH, Kartner N, Buick RN, Ling V. Detection of P-glycoprotein in ovarian cancer: a molecular marker associated with multidrug resistance. *J Clin Oncol* 1985; 3: 311.
29. Gerlach JH, Bell DR, Karakousis C et al. P-glycoprotein in human sarcoma: evidence for multidrug resistance. *J Clin Oncol* 1987; 5: 1.452.

30. Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Casals D et al. Multidrug resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 695-698.
31. Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, Pastan I. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 7.735.
32. Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Casals D, Bertino JR, Melamed MR. P-glycoprotein expression in human tumors and normal tissues. *J Histochem Cytochem* 1990; 38: 1.277.
33. Sugawara I, Kataoka I, Morishita Y et al. Tissue distribution of P-glycoprotein encoded by a multidrug-resistant gene as revealed by a monoclonal antibody MRK16. *Cancer Res* 1988; 48: 1.926.
34. Kartner N, Evernden-Porelle D, Dradley G, Ling V. Detection of P-glycoprotein in multidrug-resistant cell lines by monoclonal antibodies. *Nature (Lond)* 1985; 316: 820.
35. Scheper RJ, Bulte JWM, Brakkee JGP et al. Monoclonal antibody JSB-1 detects a highly conserved epitope on the P-glycoprotein associated with multidrug-resistance. *Int J Cancer* 1988; 42: 389-394.
36. Meyers MB, Rittman-Grauer L, O'Brien JP, Safa AR. Characterization of monoclonal antibodies recognizing a Mr 180.000 P-glycoprotein: differential expression of the Mr 180.000 and Mr 170.000 P-glycoprotein in multidrug-resistant human tumor cells. *Cancer Res* 1989; 49: 3.147.
37. Wolf DC, Horwitz SB. P-glycoprotein transports corticosterone and is photoaffinity-labeled by the steroid. *Int J Cancer* 1992; 52: 141-146.
38. Pastan I, Gottesman MM. Multidrug resistance. *Annu Rev Med* 1991; 42: 277-286.
39. Kanamaru H, Kakehi Y, Yoshida O, Nakanishi S, Pastan I, Gottesman MM. Mdr1 RNA levels in human renal cell carcinomas: Correlation with grade and prediction of reversal of doxorubicin resistance by quinidine in tumors explants. *J Natl Cancer inst* 1989; 81: 844-849.
40. Rochlitz CF, Lobeck H, Peter S et al. Multiple drug resistance gene expression in human renal cell cancer is associated with the histologic subtype. *Cancer* 1992; 69: 2.993-2.998.
41. Ellis AL, Munger CE, Bunch RT et al. Components of intrinsic drug resistance in the rat hepatoma. *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 331-342.
42. Sato H, Gottesman MM, Goldstein LJ et al. Expression of the multidrug-resistance gene in myeloid leukemias. *Leukemia Res* 1990; 14: 11-21.
43. Dalton W, Grogan TM, Meltzer PS et al. Drug-resistance in multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma: detection of P-glycoprotein and potential circumvention by addition of verapamil to chemotherapy. *J Clin Oncol* 1989; 7: 415-424.
44. Epstein J, Xiao H, Oba BK. P-glycoprotein expression in plasma-cell myeloma is associated with resistance to VAD. *Blood* 1989; 74: 913917.
45. Bourhis J, Goldstein LJ, Riou G, Pastan I, Gottesman MM, Bernard J. Expression of a human multidrug resistance gene in ovarian carcinomas. *Cancer Res* 1989; 49: 5.062-5.065.
46. Bourhis J, Bernard J, Hartmann O, Boccon-Gibod L, Lemerle J, Riou G. Correlation of MDR1 gene expression with chemotherapy in neuroblastoma. *J Natl Cancer inst* 1989; 81: 1.401.

47. Chan HSL, Haddad G, Thorner PS et al. P-glycoprotein expression as a predictor of the outcome of therapy for neuroblastoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 1.608-1.614.
48. Chan HSL, Thorner PS, Haddad G, Ling V. Immunohistochemical detection of P-glycoprotein: prognostic correlation in soft tissue sarcoma of childhood. *J Clin Oncol* 1990; 8: 689-704.
49. Seeger RC, Brodeur GM, Sather H et al. Association of multiple copies of the N-myc oncogene with rapid progression of neuroblastomas. *N Engl J Med* 1985; 313: 1.111-1.116.
50. Ling V. P-glycoprotein and resistance to anticancer drugs. *Cancer* 1992; 69: 2.603-2.609.
51. Ro J, Sahin A, Ro JY, Fritsche H, Hortobagyi G, Blick M. Immunohistochemical analysis of P-glycoprotein expression correlated with chemotherapy resistance in locally advanced breast cancer. *Hum Pathol* 1990; 21: 787.
52. Robey-Cafferty SS, Rultledge ML, Bruner JM. Expression of a multidrug-resistance gene in esophageal adenocarcinoma. *Am J Clin Pathol* 1990; 93: 1-7.
53. Pirker R, Wallner J, Geissler K et al. MDR1 gene expression and treatment outcome in acute myeloid leukemia. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 708-712.
54. Salmon SE, Grogan TM, Miller T, Scheper R, Dalton WS. Prediction of doxorubicin resistance in vitro in myeloma, lymphoma and breast cancer by P-glycoprotein staining. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81: 696-701.
55. Noonan KE, Beck C, Holzmayer TA et al. Quantitative analysis of *mdr1* (multidrug resistance) gene expression in human tumors by polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7.160-7.164.
56. Roninson IB. The role of MDR1 (P-glycoprotein) gene in multidrug resistance in vitro and in vivo. *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 95-102.
57. Michaeli M, Damiani D, Michelutti A et al. Overexpression of multidrug resistance-associated p170-glycoprotein in acute non-lymphocytic leukemia. *Eur J Hematol* 1992; 48: 87.
58. Sato H, Preisler H, Day R et al. MDR1 transcript levels as an indication of resistant disease in acute myelogenous leukemia. *Br J Haematol* 1990; 75: 340.
59. Marie JP, Zittoun R, Sikic BI. Multidrug resistance (*mdr1*) gene expression in adult acute leukemias: correlations with treatment outcome and in vitro drug sensitivity. *Blood* 1991; 78: 586.
60. Campos L, Guyotat D, Archimbaud E et al. Clinical significance of multidrug resistance P-glycoprotein expression in acute non-lymphoblastic leukemia cells at diagnosis. *Blood* 1992; 79: 473.
61. Drach D, Zhao S, Drach J et al. Subpopulations of normal peripheral blood and bone marrow cells express a functional multidrug resistant phenotype. *Blood* 1992; 80: 2.729-2.734.
62. Weide R, Dowding C, Pausen W, Goldman J. The role of MDR-1/P-170 mechanism in the development of multidrug resistance in chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 1990; 4: 695-699.
63. Marie JP, Brophy NA, Ehsan MN et al. Expression of multidrug resistance gene *mdr1* mRNA in a subset of normal bone marrow cells. *Br J Haematol* 1992; 81: 145-152.
64. Chandhary PM, Roninson IB. Expression and activity of P-glycoprotein, a multidrug efflux pump, in human hematopoietic stem cells. *Cell* 1991; 66: 85-94.

65. List AF, Spier CM, Cliem A et al. Expression of the multidrug resistance gene product (P-glycoprotein) in myelodysplasia is associated with a stem cell phenotype. *Br J Hematol* 1991; 78: 28-34.
66. Tsuruo T, Iida H, Tsukagoshi S, Sakurai Y. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. *Cancer Res* 1981; 41: 1.967-1.972.
67. Nogae I, Kohno K, Kikuchi J et al. Analysis of structural features of dihydropyridine analogs needed to reverse multidrug resistance and to inhibit photoaffinity labeling of P-glycoprotein. *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 519-527.
68. Yoshinari T, Iwasawa Y, Miura K et al. Reversal of multidrug resistance by new dihydropyridines with lower calcium antagonistic activity. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989; 24: 367-370.
69. Tsuruo T, Iida H, Tsukagoshi S, Sakurai Y. Increased accumulation of vincristine and adriamycin in drug-resistant P388 tumor cells following incubation with calcium antagonists and calmodulin inhibitors. *Cancer Res* 1982; 42: 4.730-4.733.
70. Ramu N, Ramu A. Circumvention of adriamycin resistance by dipyridamole analogues: a structure-activity relationship study. *Int J Cancer* 1989; 43: 487-491.
71. Chauffert B, Martin MS, Hamman A, Michel MF, Martin F. Amiodarone induced enhancement of doxorubicin and 4'deoxydoxorubicin cytotoxicity to rat colon cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* 1986; 46: 825-830.
72. Tsuruo T, Iida H, Kitatani Y, Yokota K, Tsukagoshi S, Sakurai Y. Effects of quinidine and related compounds on cytotoxicity and cellular accumulation of vincristine and adriamycin in drug-resistant tumor cells. *Cancer Res* 1984; 44: 4.303-4.307.
73. Zamora JM, Pearce HL, Beck WT. Physical-chemical properties shared by compounds that modulate multidrug resistance in human leukemic cells. *Mol Pharmacol* 1988; 33: 454-462.
74. Inaba M, Nagashima K. Non-antitumor vinca alkaloids reverse multidrug resistance in P388 leukemia cells in vitro. *Jpn J Cancer Res* 1986; 77: 197-204.
75. Twentyman PR, Fox NE, White DJG. Cyclosporin A and its analogues as modifiers of adriamycin and vincristine resistance in a multidrug resistant human lung cancer cell line. *Br J Cancer* 1987; 56: 55-57.
76. Arceci RJ, Stieglitz K, Bierer BE. Immunosuppressants FK506 and rapamycin function as reversal agents of the multidrug resistance phenotype. *Blood* 1992; 80: 1.528-1.536.
77. Yang CPH, Depinho SG, Greenberger LM, Arceci RJ, Horwitz SB. Progesterone interacts with P-glycoprotein in multidrug-resistant cells and in the endometrium of gravid uterus. *J Biol Chem* 1989; 264: 782-788.
78. Ramu A, Glaubiger D, Fuks Z. Reversal of acquired resistance to doxorubicin in P388 murine leukemia cells by tamoxifen and other triparanol analogues. *Cancer Res* 1984; 44: 4.392-4.395.
79. Goslan MP, Lum BL, Sikic 131. Reversal by cefoperazone of resistance to etoposide, doxorubicin and vinblastine in multidrug resistant human sarcoma cells. *Cancer Res* 1989; 49: 6.901-6.905.
80. Gupta S, Kim J, Gollapudi S. Reversal of daunorubicin resistance in P388/ADR cells by itraconazole. *J Clin Invest* 1991; 87: 1.467-1.469.

81. Medoff G, Valeriote F, Deckman J. Potentiation of anticancer agents by amphotericin B. *J Natl Cancer Inst* 1981; 67: 131-135.
82. Safa AR. Photoaffinity labeling of the multidrug-resistance-related P-glycoprotein with photoactive analogs of verapamil. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 7.187-7.191.
83. Yusa K, Tsuruo T. Reversal mechanism of multidrug resistance by verapamil: direct binding of verapamil to P-glycoprotein on specific sites and transport of verapamil outward across the plasma membrane of K562/ADM cells. *Cancer Res* 1989; 49: 5.002-5.006.
84. Qian X, Beck WT. Binding of an optically pure photoaffinity analog of verapamil, LU-49888, to P-glycoprotein from multidrug-resistant human leukemic cell lines. *Cancer Res* 1990; 50: 1.132-1.137.
85. Cornwell MM, Gottesman MM, Pastan I. Increased vinblastine binding to membrane vesicles from multidrug-resistant KB cells. *J Biol Chem* 1986; 261: 7.921-7.928.
86. Naito M, Tsuruo T. Competitive inhibition by verapamil of ATP dependent high affinity vincristine binding to the plasma membrane of multidrug-resistant K562 cells without calcium ion involvement. *Cancer Res* 1989; 49: 1.452-1.455.
87. Chauffert B, Martin F, Caiguard A, Jeamin JF, Leclerc A. Cytofluorescence localization of adriamycin in resistant colon cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 1984; 13: 14-18.
88. Kaizer HG, Joenje H. Increased cytosolic pH in multidrug-resistant human lung tumor cells: effect of verapamil. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81: 706-709.
89. Vayuvegula B, Slater L, Meador J, Gupta S. Correction of altered membrane potentials. A possible mechanism of cyclosporin A and verapamil reversal of pleiotropic drug resistance in neoplasia. *Cancer Chemother Pharmacol* 1988; 22: 163-168.
90. Kaye SB. Reversal of multidrug resistance. *Cancer Treat Rev* 1990; 17: 37-43.
91. Miller TP, Grogan TM, Dalton WS, Spier CM, Scheper RJ, Salmon SE. P-glycoprotein expression in malignant lymphoma and reversal of clinical drug resistance with chemotherapy plus high-dose verapamil. *J Clin Oncol* 1991; 9: 17-24.
92. Dalton WS, Grogan TM, Meltzer PS et al. Drug-resistance in multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma: detection of P-glycoprotein and potential circumvention by addition of verapamil to chemotherapy. *J Clin Oncol* 1989; 7: 415-424.
93. Kerr DJ, Graham J, Cummings J et al. The effect of verapamil on the pharmacokinetics of adriamycin. *Cancer Chemother Pharmacol* 1986; 18: 239-242.
94. Lum BL, Kaubisch S, Yahanda AM et al. Alteration of etoposide pharmacokinetics and pharmacodynamics by cyclosporine in a phase 1 trial to modulate multidrug resistance. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1.535-1.642.
95. Mechetner EB, Roninson IB. Efficient inhibition of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance with a monoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 5.824-5.828.
96. Hamada H, Tsuruo T. Growth inhibition of multidrug-resistant cells by monoclonal antibodies against P-glycoprotein. In: Roninson IB, editor. *Molecular and cellular biology of multidrug resistance in tumor cells*. Nueva York: Plenum Press, 1991; 373-391.

97. Pearson JW, Fogler WE, Voker K et al. Reversal of drug resistance in a human colon cancer xenograft expressing MDR1 complementary DNA by in vivo administration of MRK16 monoclonal antibody. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 1.386-1.391.
98. Broxterman HJ, Kniper CM, Schuurhuis GJ et al. Increase of daunorubicin and vincristine accumulation in multidrug resistant human ovarian carcinoma cells by a monoclonal antibody reacting with P-glycoprotein. *Biochem Pharmacol* 1988; 37: 2.389-2.393.
99. Rittman-Grauer L, Saunders V, Lowe S et al. Potentiation of vinca toxicity in drug resistant tumors with monoclonal antibody HYB-241. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1990; 31: 448.
100. Fitzgerald DJ, Willingham MC, Cardarelli CO et al. A monoclonal antibody-Pseudomonas toxin conjugate that specifically kills multidrug-resistant cells. *Proc Nati Acad Sci USA* 1987; 84: 4.288-4.292.
101. Beck WT. Do anti-P-glycoprotein antibodies have a future in the circumvention of multidrug resistance? *J Nati Cancer Inst* 1991; 83: 1.3641.366.
102. Benson AB, Trump DL, Koeller JM et al. Phase I study of vinblastine and verapamil given by concurrent iv infusion. *Cancer Treat Rep* 1985; 69: 795-799.
103. Ozols RF, Cunnion RE, Klecker RW et al. Verapamil and adriamycin in the treatment of drug-resistant ovarian cancer patients. *J Clin Oncol* 1987; 5: 641-647.
104. Bessho F, Kinumaki H, Kobayashi M et al. Treatment of children with refractory acute Lymphocytic leukemia with vincristine and diltiazem. *Med Pediatr Oncol* 1985; 13: 199-202.
105. Presant GA, Kennedy PS, Wiseman C et al. Verapamil reversal of clinical doxorubicin resistance in human cancer. A Wilshire Oncology Medical Group pilot phase I-II study. *Am J Clin Oncol* 1986; 9: 355-357.
106. Cairo MS, Siegel S, Anas N, Sender L. Clinical trial of continuous infusion verapamil, bolus vinblastine, and continuous infusion VP-16 in drug-resistant pediatric tumors. *Cancer Res* 1989; 49: 1.063-1.066.
107. Durie BG, Dalton WS. Reversal of drug-resistance in multiple myeloma with verapamil. *Br J Haematol* 1988; 68: 203-206.
108. Gore ME, Selby RJ, Miller B et al. The use of verapamil to overcome drug resistance in myeloma [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1988; 7: 228.
109. Trumper LH, Ho AD, Wulf G, Hunstein W. Addition of verapamil to overcome drug resistance in multiple myeloma: preliminary clinical observations in 10 patients. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1.578-1.579.
110. Wilson WH, Bryant G, Bates S et al. Infusional etoposide, vincristine and adriamycin with cyclophosphamide, prednisone (EPOCH) and R-verapamil (RV) in relapsed lymphoma [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1991; 10: 956.
111. Lower EE, Preisler HD. Infusional vinblastine with multidrug resistance reversers verapamil and chloroquine in metastatic breast cancer [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1991; 10: 103.
112. Figueredo A, Arnold A, Goodyear M et al. Addition of verapamil and tamoxifen to the inicial chemotherapy of small cell lung cancer. *Cancer* 1990; 65: 1.895-1.902.
113. Plumb JA, Milroy R, Kaye SB. The activity of verapamil as a resistance modifier in vitro in drug-resistant human tumour cell lines is not stereospecific. *Biochem Pharmacol* 1990; 39: 787-792.

114. Schumacher K, Ladda E, Bühl K et al. Phase I clinical trial of R-verapamil in drug resistant malignant diseases [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1992; 11: 316.
115. Philip PA, Joel S, Monkman SC et al. A phase I study on the reversal of multidrug resistance (MDR) in vivo: nifedipine plus etoposide. *Br J Cancer* 1992; 65: 267-270.
116. Colozza M, Rossetti R, Anastasi P et al. Chemotherapy of metastatic renal cell carcinoma (RCC) with 4'epirubicin (EPI) plus vinblastine (VBL) and the calcium channel blocker nifedipine (NIF): A phase 1-11 study [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1990; 9: 590.
117. Onoda JM, Nelson KK, Taylor JD, Honn KV. In vivo characterization of combination antitumor chemotherapy with calcium channel blockers and cis-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Res* 1989; 49: 2.844-2.850.
118. Van der Hoeven JJM, van Kalken CK, Maessen P, van der Vijgh WJF, Pinado HM. Combination of doxorubicin (Dox) and the calcium channel blocker bepridil (Bp) in patients with Dox resistant tumors [resumen]. 5th European Conference on Clinical Oncology 1989; 0-0428.
119. Miller RL, Bukowski RM, Budd GT et al. Clinical modulation of doxorubicin resistance by the calmodulin-inhibitor, trifluoperazine: a phase 1/II *J Clin Oncol* 1988; 6: 880-888.
120. Trump DL, Smith DC, Schold SC et al. High dose tamoxifen and five day continuous infusion vinblastine: a phase 1 trial of an inhibitor of the MDR1 phenotype [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1991; 10: 252.
121. Cantwell B, Carmichael J, Millward MJ, Chatterjee M, Harris AL. Intermittent high dose tamoxifen (HDT) with oral etoposide (EPO): phase 1 and II clinical studies. *Br J Cancer* 1989; 60: 450.
122. Stuart NSA, Philip P, Harris AL et al. High-dose tamoxifen as an enhancer of etoposide cytotoxicity. Clinical effects and in vitro assessment in P-glycoprotein expressing cell lines. *Br J Cancer* 1992; 66: 833-839.
123. Chauffert B, Rey D, Condert B, Duras M, Martin F. Amiodorone is more efficient than verapamil in reversing resistance to anthracyclines in tumour cells. *Br J Cancer* 1987; 56: 119-122.
124. Bates SE, Denicoff AM, Cowan K. A study of MDR-1 expression and pharmacologic reversal in human breast cancer [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1991; 10: 148.
125. Dones RD, Kerr DJ, Harnett AN, Rankin EM, Ray S, Kaye SB. A pilot study of quinidine and epirubicin in the treatment of advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1990; 62: 133-135.
126. Wishart GC, Morrison JG, Plumb JA. In a randomized trial in breast cancer quinidine does not increase epirubicin toxicity but adequate tumour levels can be detected [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1991; 10: 83. 127.
127. Agarwala S, Bahnson R, Wilson J, Szumowski J, Downs M, Ernstoff M. - Evaluation of the combination of vinblastine and quinidine in patients with metastatic renal cell carcinoma: a phase 1 study [resumen]. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1991; 32: 1.161.
128. Verweij J, Herweijer H, Planting A, Rodenberg C, Stoter G. In vitro and in vivo studies on the effect of cyclosporin A in the circumvention of multidrug resistance [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1990; 9: 74.

129. Erlichman C, Bjarnason G, Bunting P et al. Cyclosporin A (CYA) modulation of doxorubicin (D): A pharmacokinetic/pharmacodynamic trial [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1991; 10: 335.
130. Durivage HJ, Buzaid AC, Todd MB et al. A phase I-II study of pulse cyclosporin-A (CsA) plus vinblastine (VBL) in selected refractory malignancies [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1991; 10: 335.
131. Samuels B, Ratain M, Mick R et al. Phase I trial of multidrug resistance modulation with cyclosporin A [resumen]. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1991; 32: 1.163.
132. Yahanda AM, Adler KM, Fisher GA et al. Phase 1 trial of etoposide with cyclosporine as a modulator of multidrug resistance. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1.624-1.634.
133. Cho J, Hurtado N, Wong S et al. Phase I-II trial of cyclosporin A (CsA), cisplatinum (CDDP) and VP-16 in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1991; 10: A 861.
134. Warner E, Tobe S, Pei Y, Trachtenberg J, Skorecki K. Phase 1 trial of vinblastine (VBL) with oral cyclosporine A (CsA) as a multidrug resistance modifier in renal cell carcinoma (RCC) [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1992; 11: 632.
135. Marie JP, Bastie JN, Coloma F et al. A phase I-II trial of cyclosporine A, (CSA) with etoposide (E) and mitoxantrone (M) in advanced acute leukemia (AL) [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1992; 11: 911.
136. Osieka R, Seeber S, Pannenbäcker R, Soll D, Glatte P, Schmidt CG. Enhancement of etoposide-induced cytotoxicity by cyclosporin A. *Cancer Chemother Pharmacol* 1986; 18: 198-202.
137. Bertrand Y, Capdeville R, Balduck N, Philip N. Cyclosporin A used to reverse drug resistance increases vincristine neurotoxicity. *Am J Hematol* 1992; 158-159.
138. Sonneveld P, Durie BGM, Lokhorst MH et al. Modulation of multidrug-resistant multiple myeloma by cyclosporin. *Lancet* 1992; 340: 255-259.
139. List AF, Spier C, Greer J et al. Biochemical modulation of anthracycline resistance (MDR) in acute leukemia with cyclosporin-A (CSA) [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1992; 11: 866.
140. Chan HSL, Koren G, Thorner PS et al. Reversal of multidrug resistance (MDR) in retinoblastoma (RB) by cyclosporin A (CsA) [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1992; 11: 1.296.
141. Chan HSL, Thorner PS, Weitzman S et al. Cyclosporin A for reversal of multidrug resistance in childhood malignancies [resumen]. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1992; 33: 2.854.
142. Kolars JC, Awni WM, Merion RM, Watkins PB. First-pass metabolism of cyclosporin by the gut. *Lancet* 1991; 338: 1.488-1.490.
143. Kane M, Laucius JF, Bellet R et al. Phase I/II trial of etoposide and cefoperazone in the treatment of refractory neoplasms [resumen]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1991; 10: 315.
144. Chauffert B, Pelletier H, Corda C et al. Potential usefulness of quinine to circumvent the anthracycline resistance in clinical practice. *Br J Cancer* 1990; 62: 395-397.
145. Hait WN, Aftab DT. Rational design and pre-clinical pharmacology of drugs of reversing multidrug resistance. *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 103-107.

146. Boesch D, Gaveriaux C, Jachez B, Pourtier-Manzanedo A, Bollinger P, Loor F. In vivo circumvention of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance of tumor cells with SDZ PSC 833. *Cancer Res* 1991; 51: 4.2264.233.
147. Keller RP, Altermatt HJ, Nooter K et al. SDZ PSC 833, a non-immunosuppressive cyclosporine: its potency in overcoming P-glycoprotein-mediated multidrug resistance of murine leukemia. *Int J Cancer* 1992; 50: 593-597.
148. Loor F, Boesch D, Gaveriaux C, Jachez B, Pourtier-Manzanedo A, Emmer G. SDZ 280-446, a novel semi-synthetic cyclopeptolide: in vitro and in vivo circumvention of the P-glycoprotein-mediated tumour cell multidrug resistance. *Br J Cancer* 1992; 65: 11-18.
149. Leonce S, Pierre A, Anstett M et al. Effects of a new triazinoaminopiperidine derivative on adriamycin accumulation and retention in cells displaying P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Biochem Pharmacol* 1992; 44: 1.707-1.715.
150. Xiu FX, Martin TJ, Bell DR, de Luise M, Zalberg JR. Combined use of cyclosporin A and verapamil in modulating multidrug resistance in human leukemia cell lines. *Cancer Res* 1990; 50: 2.953-2.957.
151. Lehuert M, Dalton WS, Roe D, Emerson S, Salmon SE. Synergistic inhibition by verapamil and quinine of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in a human myeloma cell line model. *Blood* 1991; 77: 348354.
152. Hendricks CB, Rowinsky EK, Grochow LB, Donehower RC, Kaufmann SH. Effect of P-glycoprotein expression in the accumulation and cytotoxicity of topotecan (SK & F 104864), a new camptothecin analog. *Cancer Res* 1992; 52: 2.268-2.278.
153. Galski H, Sullivan M, Willingham MC et al. Expression of a human multidrug resistance cDNA (MDR1) in the bone marrow of transgenic mice: resistance to daunomycin-induced leukopenia. *Mol Cell Biol* 1989; 9: 4.357.
154. Mickisch GH, Merlino GT, Galski H, Gottesman MM, Pastan I. Transgenic mice that express the human multidrug-resistance gene in bone marrow enable a rapid identification of agents that reverse drug resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 547.
155. Mickisch GH, Licht T, Merlino GT, Gottesman MM, Pastan I. Chemotherapy and chemosensitization of transgenic mice which express the human multidrug resistance gene in bone marrow: efficacy, potency, and toxicity. *Cancer Res* 1991; 51: 5.417-5.424.
156. Mickisch GH, Aksentijevich I, Schoenlein PV et al. Transplantation of bone marrow cells from transgenic mice expressing the human MDR1 gene results in long-term protection against the myelosuppressive effect of chemotherapy in mice. *Blood* 1992; 79: 1.087-1.093.
157. Chaudhary PM, Mechetner EB, Roninson IB. Expression and activity of the multidrug resistance P-glycoprotein in human peripheral blood lymphocytes. *Blood* 1992; 80: 2.735-2.739.

Tabla 1. Agentes antienoplásicos que pertenecen al fenotipo de resistencia pleotrópica

Adriamicina	Vinblastina	Etopósido	Actinomicina D
Daunorrubicina	Vincristina	Tenipósido	Mitramicina
Mitoxantrona	Taxol		Mitomicina C
Epirubicina			

Tabla 2. Moduladores de la resistencia pleotrópica mediada por glucoproteína P

Tipo de agente	Ejemplo	Referencia
Antagonistas del calcio	Verapamilo	(66)
	Dihidropiridinas	(67, 68)
Inhibidores de la calmodulina	Fenotiazinas	(69)
Antiagregantes	Dipiridamol	(70)
Antiarrítmicos	Amiodarona	(71)
	Quinidina	(72)
Antipalúdicos	Quinina	(73)
	Clorocina	(74)
Inmunosupresores	Ciclosporina A, C, G	(75)
	FK-506	(76)
Esteroides	Progesterona	(77)
Análogos de triparanol	Tamoxifeno	(78)
Cefalosporinas	Cefoperazona	(79)
Antifúngico	Itraconazol	(80)
	Amfotericina B	(81)