

Hospital Provincial Clínicoquirúrgico Docente
"Dr. Gustavo Aldereguía Lima". Cienfuegos

RESISTENCIA A DROGAS MEDIADA POR LA GLICOPROTEÍNA P

Dr. Julio Fernández Águila,¹ Dra. Ofelia Crombet Ramos,² Dra. Icilany Villares Álvarez³ y Dr. Reynaldo Pons Vázquez⁴

RESUMEN

A pesar de los logros alcanzados en la quimioterapia de las enfermedades malignas, la resistencia a citotóxicos constituye un gran obstáculo para la curación de los pacientes. Se han identificado varios genes, proteínas y vías metabólicas implicados en este fenómeno. Hasta el momento el más estudiado es el gen *mdr 1* y su producto, la glicoproteína P, que actúa como una bomba extractora dependiente de energía; se ha demostrado en tejidos normales vinculados con funciones secretoras o de barrera, así como en neoplasias humanas, donde provoca un fenotipo de resistencia simultánea a múltiples drogas. El aumento en la expresión del gen *mdr 1*, se señala como un factor pronóstico adverso en leucemias, linformas y algunos tumores sólidos. La importancia clínica de este hecho ha llevado a múltiples estrategias para evitar o revertir los efectos de la resistencia a las drogas antineoplásicas.

Descriptores DeCs: RESISTENCIA A LAS DROGAS; NEOPLASMAS/ quimioterapia; P-GLICOPROTEINA/uso terapéutico; GENES MDR.

En los últimos años se han alcanzado grandes éxitos en la quimioterapia de las enfermedades malignas; algunas neoplasias pueden ser curadas con el uso de esta modalidad terapéutica y en otras, se consigue un efecto paliativo importante de incremen-

to de la sobrevida.¹ A pesar de ello, la mayoría de las neoplasias muestran resistencia inicial a la quimioterapia, o la adquieren en el curso del tratamiento, lo que constituye el mayor obstáculo para la curación de estos casos.

¹ Especialista de I Grado en Hematología. Hospital Provincial Clínicoquirúrgico Docente "Dr. Gustavo Aldereguía Lima". Cienfuegos.

² Especialista de I Grado en Hematología. Clínica Pediátrica. Instituto de Hematología e Inmunología. Ciudad de La Habana.

³ Médico General. Policlínico "Dr. Mario Muñoz Abreus". Cienfuegos.

⁴ Especialista de I Grado en Hematología. Hospital Pediátrico Provincial "Eduardo Agramonte Piña". Camagüey.

RESPUESTA DEL CÁNCER A LA QUIMIOTERAPIA

Curable en algunos pacientes (> 30 %) y mejoría de la supervivencia en quienes no curan.

- Coriocarcinoma.
- Leucemia linfoblástica aguda de la infancia.
- Enfermedad de Hodgkin.
- Linfomas no hodgkinianos (alto grado de malignidad y de grado intermedio).
- Tricoleucemias.
- Carcinoma testicular.
- Tumores sólidos de la infancia (rhabdomyosarcoma embrionario, sarcoma de Ewing, tumor Wilms).
- Leucemia mieloblástica aguda.
- Leucemia linfoblástica aguda del adulto.

PALIACIÓN ÚTIL. CURABLE EN ALGUNOS PACIENTES (5-30 %)

- Carcinoma ovárico.
- Carcinoma vesical.
- Carcinoma pulmonar de células pequeñas.
- Carcinoma gástrico.

MECANISMOS QUE PARTICIPAN EN LA RESISTENCIA SIMULTÁNEA A MÚLTIPLES DROGAS

1. Amplificación o sobreexpresión de genes que codifican proteínas y participan en el transporte a través de membranas celulares. Por ejemplo: mdr 1, mrp, lrp.
2. Cambios en proteínas celulares involucradas en procesos de detoxificación. Por ejemplo: glutatión-S-transferasa, metalotioneinas.
3. Cambios en moléculas que participan

en la reparación del ácido desoxirribonucleico (ADN). Por ejemplo: O₆-metil-guanina-ADN-metiltransferasa, topoisomerasa II, p 21 WAF 1/cip 1.

4. Activación de oncogenes. Por ejemplo: Her-2/neu, bcl-2, bcl XI, c-myc, ras, c jun, c fos, p 210, bcr abl o p53 mutada.

La resistencia a citotóxicos puede afectar específicamente a una droga. Por ejemplo resistencia al metotrexato por sobreexpresión del gen que codifica la enzima dihidrofolatorreductasa) o a varias de ellas, como la resistencia simultánea a múltiples drogas.

Las alteraciones genéticas y bioquímicas responsables de la resistencia simultánea a múltiples drogas han sido objeto de intensas investigaciones por más de 25 años, llegándose a conocer varios genes, proteínas y vías metabólicas implicadas en este proceso.²⁻⁷

El mecanismo más estudiado es el ejercido por el gen mdr 1, que se localiza en el brazo largo del cromosoma 7^{8,9} y codifica una proteína de 170 kd (p 170), también conocida como glicoproteína p (gP) (p de permeabilidad). Este gen forma parte de una pequeña familia que tiene 2 miembros en los humanos (mdr 1 mdr 2/3).

Estudios realizados no han demostrado que el gen mdr 2/3 provoque resistencia a la quimioterapia.¹⁰ La familia mdr pertenece a la superfamilia de proteínas ABC (*adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette*) especializadas en el transporte celular dependiente de energía, que participan en un amplio rango de eventos como la expulsión de sustancias nocivas, secreción de toxinas y movilización de iones y péptidos.^{11,12}

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA GLICOPROTEÍNA P.

La p170 está compuesta por una cadena de aproximadamente 1 280 residuos

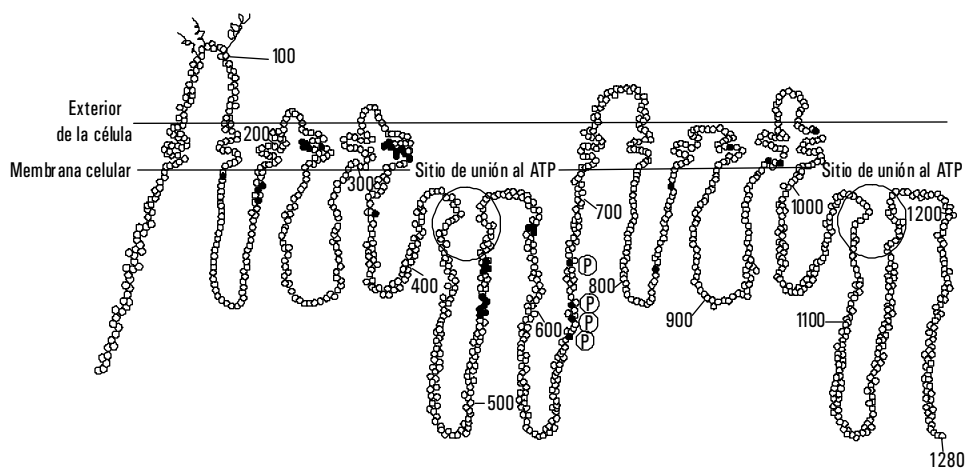


Fig. 1. Representación esquemática de la glicoproteína p. (Modificación de German UA).

de aminoácidos con 2 mitades homólogas y 12 dominios transmembrana. Presenta 2 zonas de unión al ATP ubicadas en la parte citoplasmática, un sitio de glicosilación entre el primero y el segundo dominio transmembrana y varios sitios de fosforilación¹³ (fig. 1).

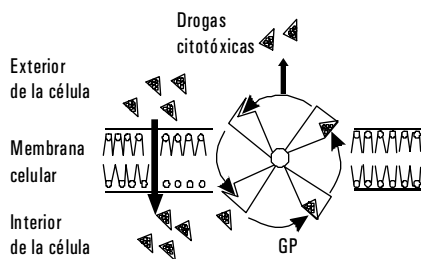


Fig. 2. Mecanismo de acción de la glicoproteína p. (Modificado de Van der Heyden s et al.).

La gp actúa como una bomba extractora con un mecanismo no totalmente conocido (fig. 2). Se especula que las drogas pasan a través de un poro hidrofóbico formado por un dominio transmembrana y que la salida de sustan-

cias requiere de un cambio conformacional de la proteína dependiente de energía.¹⁴ Se ha sugerido que el estado de fosforilación de la gp pudiera regular este proceso y modular la resistencia a citotóxicos.¹⁵

Una segunda hipótesis de cómo la p170 logra disminuir la concentración intracelular de las drogas, postula que lo hace de forma indirecta, por regulación de gradientes de pH y/o eléctrico en las membranas plasmáticas.¹⁶

La gp constituye un sistema de detoxificación natural que se expresa en varios tejidos humanos normales, asociados con funciones secretoras o de barrera. Se ha desarrollado en canales biliares, conductos pancreáticos, intestino delgado y grueso, túbulos proximales del riñón, glándula adrenal, placenta y en las células endoteliales del sistema nervioso central y del testículo, pudiendo estar implicada en los supuestos santuarios de algunos procesos malignos como la leucemia linfoblástica aguda.¹⁷

La mayoría de los posibles sustratos de la gp son productos naturales e incluyen alcaloides de la vinca (vincristina, vinblastina); antraciclinas (doxorrubicina,

daunorrubicina, idarrubicina); epipodófiloxinas (etopósido, tenipósido) y taxanes (paclitaxel, taxotere), entre otras drogas.

TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DEL GEN MDR 1 Y DE LA GLICOPROTEÍNA P

Los cambios genéticos responsables de la resistencia a la quimioterapia pueden ocurrir al nivel del ADN, del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) y de la proteína sintetizada. Para evaluar su expresión existen varios métodos.¹⁸⁻²²

TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DEL GEN MDR 1 Y DE LA GP

DETERMINACIÓN DE ADN

- Cariotipo
- *Southern blot*
- *Dot blot*
- Renaturalización del ADN en gel de agarosa

DETERMINACIÓN DE ARN

- *Nothern blot*
- Slot blot
- Análisis de protección del ARN
- Hibridación *in situ*
- Reversotranscripción seguida de reacción en cadena de la polimerasa

DETERMINACIÓN DE GP

- *Western blot*
- Inmuno-histoquímica con anticuerpos monoclonales
- Citometría de flujo-anticuerpos monoclonales

- Estudios funcionales con sustratos fluorescentes o radiactivos.

Las células pueden convertirse en resistentes a los agentes antineoplásicos por amplificación de un gen específico. La aparición de bandas de tinción homogénea o de cromosomas dobles diminutos, constituyen marcadores de amplificación génica en el cariotipo y sugiere que el fenotipo resistente es el resultado de este proceso. La amplificación del gen *mdr 1* no es imprescindible para lograr un fenotipo de resistencia simultánea a múltiples drogas *in vitro*,²³ el número de copias en la mayoría de los casos permanece inalterado, mientras que hay sobreexpresión al nivel del ARNm.²⁴

De las pruebas que detectan niveles de ADN, la más sensible es la renaturalización en gel de agarosa.

La mayoría de los exámenes útiles para estudiar el ARN se realizan con un conjunto de células, por tanto, los resultados reflejan el fenotipo de las células malignas y el de las que no lo son.

La técnica del *Nothern blot* es relativamente sensible, tiene como dificultad la inestabilidad de la cadena de ARN y su fácil degradación enzimática. Por *slot blot* se consigue un estudio más rápido, simple y reproducible, mientras que el análisis de protección del ARN es un proceder más riguroso, sensible y de mayor complejidad. La hibridación *in situ* brinda una confirmación morfológica de la presencia del ARNm del gen *mdr 1* en tejidos y células tumorales, pero se trata de una técnica excesivamente laboriosa.

El método de la reversotranscripción empleando reacción en cadena de la polimerasa, es para algunos el más confiable, al lograrse resultados cuantificables aún en células con niveles bajos de resistencia a las drogas y muestras más pequeñas que

las requeridas para realizar otras técnicas.^{25,26} Tiene como limitante la posibilidad de que se produzca amplificación de la gP no tumoral.

La p170 puede ser determinada por varios estudios. El método de *Western blot* se basa en la homogenización y extracción de las membranas celulares del tejido tumoral y puede fallar en detectar una población con fenotipo resistente compuesta por un número bajo de células neoplásicas.

La detección de la gP por técnicas de inmunohistoquímica se realiza al nivel de una célula en particular, es una prueba semicuantitativa que utiliza como control modelos celulares con niveles conocidos de gP. La definición de «positividad» varía entre diferentes investigaciones, incluso en algunos artículos publicados no se menciona el límite aceptado. Con el objetivo de optimizar el estudio inmunohistoquímico, se han desarrollado una gran variedad de anticuerpos monoclonales (AcMo) que pueden distinguir determinantes internos (C219, C494, ISB-1) o epítopes externos de la proteína (Hyb-612, MRK16, 2565/F4, 4F3.16, UIC-2).²⁷⁻²⁸ Pueden aparecer falsos resultados positivos por causa de una reacción cruzada con otras moléculas, motivo por el cual debe utilizarse un panel de anticuerpos o combinar su uso con otras técnicas como la citometría de flujo.

Los AcMo además de identificar las células tumorales con un fenotipo de resistencia simultánea a múltiples drogas permiten localizar la p170 en tejidos normales, evaluar sus funciones fisiológicas, así como estudiar los efectos de las inmunotoxinas y otros agentes terapéuticos sobre las células que contengan la referida glicoproteína.

Los primeros estudios funcionales de la gP emplearon drogas antineoplásicas

(adriamicina y vincristina) marcadas con sustancias radioactivas. Posteriormente se han desarrollado otras técnicas que combinan la citometría de flujo, AcMo y colorantes supravitales. Por ejemplo, la rodamina 123, fluo-3 e hidroetidina) para evaluar la entrada, acumulación y salida de determinadas sustancias.²³ De esta forma, se puede discriminar entre líneas celulares sensibles a las drogas. Estas técnicas tienen como desventaja su baja especificidad y el uso de suspensiones celulares que pueden provocar daño en la integridad de sus membranas, particularmente en el caso de los tumores sólidos.

EXPRESIÓN DEL GEN MDR 1 EN NEOPLASIAS HUMANAS

Con el empleo de las técnicas descritas se ha estudiado la expresión del gen *mdr 1* en neoplasias humanas.¹¹⁻²³⁻²⁶⁻³⁴ Los resultados son contradictorios, la proporción de casos "positivos" varía de un reporte a otro y es difícil establecer conclusiones acerca del impacto de la gP en el fallo del tratamiento citotóxico. Estas diferencias están determinadas por la ausencia de métodos estandarizados para cuantificar la expresión del gen *mdr 1*, además, generalmente se publican sólo las investigaciones con resultados positivos, hecho que pudiera motivar una sobre-estimación en la frecuencia de expresión de la p170 en algunas enfermedades malignas como leucemias y los linfomas.

EXPRESIÓN DEL GEN MDRL EN NEOPLASIAS HUMANAS

NEOPLASIAS NO TRATADAS

ALTA EXPRESIÓN DEL GEN MDR1 EN NEOPLASIAS NO TRATADAS

- Leucemia mieloide crónica en crisis blástica

- Cáncer de colon
- Adenocarcinoma renal
- Hepatoma
- Feocromocitoma
- Carcinoma pancreático
- Carcinoma pulmonar de células pequeñas neurosecretor
- Tumor carcinoide

OCASIONALMENTE ALTA EXPRESIÓN DEL GEN MDR1

- Leucemia linfoblástica aguda del adulto
- Leucemia mieloblástica aguda del adulto
- Linfomas no hodgkinianos
- Leucemia linfóide crónica
- Neuroblastoma
- Astrocitoma
- Mieloma múltiple

EXPRESIÓN BAJA O AUSENTE DEL GEN MDR1

- Cáncer de mama
- Cáncer de pulmón
- Carcinoma vesical
- Leucemia mielóide crónica en fase crónica
- Cáncer de esófago
- Carcinoma gástrico
- Cáncer de cabeza y cuello
- Melanoma
- Mesotelioma
- Carcinoma ovárico
- Cáncer de próstata
- Sarcomas
- Timoma
- Carcinoma tiroideo
- Tumor de Wilms

NEOPLASIAS TRATADAS

ALTA EXPRESIÓN DEL GEN MDR 1 DURANTE LAS RECAÍDAS

- Linfomas no hodgkinianos
- Leucemia mielóide crónica en crisis blástica

- Leucemia linfoblástica aguda del adulto
- Mieloma múltiple
- Leucemia linfoblástica aguda del niño
- Leucemia linfóide crónica
- Neuroblastoma
- Cáncer de mama
- Feocromocitoma
- Carcinoma ovárico

Varias neoplasias que muestran expresión alta del gen *mdr 1* antes del tratamiento se originan en tejidos en los que normalmente se detecta la *gP*. Entre las que tienen una expresión baja o ausente, se encuentran algunas sensibles a la quimioterapia (por ejemplo el tumor de Wilms) y otras resistentes a múltiples citotóxicos (por el melanoma), casos en los cuales deben actuar otros mecanismos de resistencia a drogas antineoplásicas.

Algunos autores no han demostrado correlación entre la respuesta al tratamiento y la expresión del gen *mdr 1* en varios tumores, pero en las leucemias, los linfomas, el cáncer de mama, el carcinoma ovárico, el neuroblastoma y los sarcomas, constituyen un factor pronóstico adverso.^{17,18,35-37}

ESTRATEGIAS PARA EVITAR O REVERTIR LOS EFECTOS DE LA GLICOPROTEÍNA P EN LA RESISTENCIA A LA QUIMIOTERAPIA

La importancia clínica potencial de la expresión del gen *mdr 1* ha llevado a múltiples estrategias con el fin de evitar o revertir los efectos de resistencia a las drogas Fisher y Sikic³⁸ definen los siguientes elementos :

- Uso de antineoplásicos que no sustratos de la *gP* en casos con sobreexpresión del gen *mdr 1* comprobada o cuando es

muy probable. Por ejemplo, los compuestos del platino (cisplatino, carboplatin), los antimetabolitos (metotrexato, 5-fluoracilo, arabinósido de citosina, los agentes alquilantes (ciclofosfamida, carmustina) y la bleomicina. La acción terapéutica de estas drogas pudiera limitarse por la aparición de otros mecanismos de resistencia a la quimioterapia.

- Desarrollo de análogos, estructuralmente modificados, de agentes relacionados con la resistencia simultánea a múltiples drogas provocadas por el gen *mdr* 1, que mantengan su acción citotóxica y no son sustratos de la gP. Por ejemplo, la morfolinoantraciclinas y la anamicina.
- Utilización de transportadores liposomales. Por ejemplo, la doxorubicina encapsulada en liposomas mantiene su actividad contra las células que expresan la p170 *in vitro*. Este método se ha empleado para aminorar la cardiotoxicidad pero se necesitan más pruebas para demostrar la regresión del fenotipo resistente.
- Inhibición de la expresión del gen *mdr* 1. Se han utilizado oligonucleótidos antisentido en modelos celulares que pudieran ser usados en ensayos clínicos.
- Administración simultánea de inhibidores de la gP y agentes anti-neoplásicos. Por ejemplo, los bloqueadores de los canales de calcio (verapamilo, nifedipina, nicardipina), los antipalúdicos (quinidina, quinacrina), las fenotiazidas (trifluoperazinas, flufenazina), las hormonas (tamoxifén, progesterona), los antibióticos (cefoperazone, ceftriaxone), la ciclosporina A(CsA) y el dipiridamol.³⁹⁻⁴¹

La diversidad de la estructura y mecanismos de acción de estos productos sugiere que deben existir diferentes vías mediante las cuales, se pueda modular la ac-

ción de la gP y brinda una base para la combinación racional de algunos agentes.

El verapamilo es la droga que más se ha usado con este objetivo. La mayoría de los ensayos clínicos han demostrado la aparición de cardiotoxicidad y que la dosis máxima tolerada resulta inferior a la necesaria para inhibir la p170.³⁰⁻³⁸ A concentraciones séricas de 1-2 mm se manifiestan los efectos tóxicos, sin embargo, en modelos *in vitro* se requieren de 6-10 mm para inhibir completamente la gP.⁴²

Los isómeros D y L tienen la misma capacidad como moduladores, pero el D verapamilo es menos cardiotoxico y ha permitido un incremento ligero en sus concentraciones séricas en algunos estudios.⁴³

La dextniguldipina es un nuevo análogo de los bloqueadores de los canales del calcio, con mayor potencia como modulador de la resistencia simultánea a múltiples drogas, que está siendo evaluado actualmente en ensayos clínicos.⁴⁴

Entre los moduladores de primera generación, la CsA es el más potente (2 a 3 veces más que el verapamilo). *In vitro* se consigue revertir completamente el fenotipo resistente a concentraciones de 2-4 mm y en ensayos clínicos se ha demostrado que se pueden alcanzar estos niveles con una toxicidad aceptable.

El PSC 833 es un análogo de la CsA que no es nefrotóxico ni inmunosupresor y tiene una acción de 5 a 10 veces más potente que su antecesor, como inhibidor de la gP.⁴⁵⁻⁴⁶ Los moduladores de segunda generación (D verapamilo, dextniguldipina, PS C833) son menos tóxicos y en estos momentos se encuentran en diferentes fases de ensayos clínicos.

Existen investigaciones que sustentan el uso de los moduladores de la resistencia simultánea a múltiples drogas provocada por la gP, en pacientes con hemopatías malignas con el objetivo de lograr una evo-

lución más favorable.⁴⁷⁻⁴⁹ Estudios realizados en enfermos con tumores sólidos no han demostrado beneficios en aquellos tratados con la quimioterapia convencional más sustancias moduladoras, quizás porque generalmente, se incluyen pacientes con enfermedad diseminada en quienes han fallado múltiples regímenes terapéuticos.³⁸

En la práctica clínica, la resistencia a drogas mediada por la gP es la más estu-

diada, sin embargo, este parece ser un fenómeno multifactorial, donde también es posible la intervención de elementos aún no identificados. El control de la resistencia es un enfoque novedoso en el tratamiento de las enfermedades malignas. Del avance en este sentido dependerá en gran medida, la mayor probabilidad de curación de los pacientes.

SUMMARY

Despite the advances in chemotherapy of malignancies, resistance to cytotoxic drugs hinders the curing of patients. Several genes, proteins and metabolic pathways are identified to be involved in this phenomenon. Up to the present, the most studied factor is MDR I gene and its product, P-glycoprotein that acts as an energy-dependent extraction pump. It has been found in normal tissues linked to secretion or barrier functions as well as in human neoplasms where it causes a multidrug resistance phenotype. The augmented MDR I gene expression is said to be an adverse prognostic factor in leukemias, lymphomas and some solid tumors. The clinical importance of this event leads to a number of strategies to avoid or reverse the effects of resistance to anticancer drugs.

Subject headings: DRUG RESISTANCE; NEOPLASMS/drug therapy; P-GLYCOPROTEIN/therapeutic use; GENES; MDR.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salmon SE, Bertino JR, Principles of cancer therapy. En: Bennett TC, Plum F, eds. Cecil textbook of medicine. 20 ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996; Vol 1:103-49.
2. Bernard J, Rixe O. Resistance to anticancer drugs. *Press Med* 1996;25:1724-30.
3. Rinborg U, Platz A. Chemotherapy resistance mechanisms. *Acta Oncol* 1996;35(Suppl 5):76-80.
4. Kaye SB. Clinical drug resistance: the role of factors other than P-glycoprotein. *Am J Med* 1995;99(6A):40s-44s.
5. Satoh CMG, Imura N, Shimizu H. Modulation of resistance to anticancer drugs by inhibition of metallothionein synthesis. *Cancer Res* 1994;54:5225-7.
6. Chaney SG, Sancar A. DNA repair: enzymatic mechanism and relevance to drug response. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1346-60.
7. Deiry WS. Role of oncogenes in resistance and killing by cancer therapeutic agents. *Curr Opin Oncol* 1997;9:79-87.
8. Mani S, Buzaid AC, Cadman EC. Pharmacology of antineoplastic agents, multidrug resistance, and the future. En: Hoffman R, et al eds. *Hematology: basic principles and practice*. 2 ed. New York: Churchill Livingstone, 1995:915-40.
9. Gupta SP-glycoprotein expression and regulation. *Drugs Aging* 1995;7:19-29.
10. Marie JP. P-glycoprotein in adult malignancies. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995;9:239-49.
11. Hyde SC, Emsley P, Hartshorn MJ. Structural model of ATP-binding proteins associated with cystic fibrosis, multidrug resistance and bacterial transport. *Nature* 1990;346:362-5.
12. Ames GFL, Mimura CS, Holbrook SR, Shyamala V. Traffic ATPases: a superfamily of transport proteins operating from *Escherichia coli* to humans. *Adv Enzymol* 1992;65:1-47.
13. German UA. P-glycoprotein: a mediator of multidrug resistance in tumour cell. *Eur J Cancer* 1996;32A:927-44.

14. Shapiro AB, Ling V. Reconstitution of drug transport by purified p-glycoprotein. *J Biol Chem* 1995;270:16167-75.
15. Aftab DF, Yang JM, Hait WN. Functional role of phosphorylation of the multidrug transporter (P-glycoprotein) by protein kinase C in multidrug-resistant MCF-7 cells. *Oncol Res* 1994;6:59-70.
16. Roepe PD, Wei LY, Curz J, Carlson D. Lower electrical membrane potential and altered pH(i) homeostasis in multidrug resistant (mdr) cells-further characterization of a series of mdr cell lines expressing different levels of p-glycoprotein. *Biochemistry* 1993;32:11042-56.
17. De Gregorio MW, Pérez EA. Molecular mechanisms of drug resistance. En: Benett TC, Plum F, eds. *Cecil textbook of medicine*. 20 ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996;vol 1:1056-60.
18. Chan HS, 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.
19. Zhou DC, Marie JP, Suberville AM, Zittoun R. Relevance of mdr 1 gene expression in acute myeloid leukemia and comparison of the different diagnostic methods. *Leukemia* 1992;6:879-85.
20. Gruber A, Vitols S, Norgren S, Areström I, Peterson C, Björkholm M, et al. Quantitative determination of mdr 1 gene expression in leukaemic cells from patients with acute leukaemia. *Br J Cancer* 1992;66:266-72.
21. Hegewish-Beckers S, Fliegner M, Tsuruo T, Zander A, Zeller W, Hassfeld DK. P-glycoprotein expression in normal and reactive bone marrow. *Br J Cancer* 1993;67:430-5.
22. Gsur A, Zöchbauer S, Götzl M, Kyrle PA, Lechner K, Pirker R. Mdr 1 RNA expression as a prognostic factor in acute myeloid leukemia: an update. *Leuk Lymph* 1993;12:91-4.
23. Heyden S van der, Ghevens E, Bruijn E de, Oosterom A van, Maes R. P glycoprotein: clinical significance and methods of analysis. *Clin Rev Clin Lab Sci* 1995;32:221-64.
24. Paietta E. Molecular biology of leukemia for the clinician. *Med Oncol* 1995;12:157-66.
25. Noonan KE, Beck C, Holzmayer TA, Chin JE, Wunder J, Andrus IL, et al. Quantitative analysis of mdr 1 (multidrug resistance) gene expression in human tumors by polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:7160-4.
26. Lee PD, Noble-Topham SE, Bell RS, Andrus IL. Quantitative analysis of multidrug resistance gene expression in human osteosarcomas. *Br J Cancer* 1996;74:1046-50.
27. Arceci RJ, Stieglitz K, Bras J, Schinkel A, Baas F, Croop J. Monoclonal antibody to an external epitope of the human mdr 1 p-glycoprotein. *Cancer Res* 1993;53:310-7.
28. Barrand MA, Twentymann PR. Differential recognition of mdr 1a and mdr 1b gene products in multidrug resistant mouse tumor cell lines by different monoclonal antibodies. *Br J Cancer* 1992;65:239-45.
29. Nooter K, Herweijer H. Multidrug resistance (mdr) genes in human cancer. *Br J Cancer* 1991;63:663-9.
30. Goldstein LJ. Clinical reversal of drug resistance. *Cur Prob Cancer* 1995;19(2):65-124.
31. Albertoni F, Gruber A, Areström I, Vitols S. Multidrug resistance gene (mdr 1) RNA levels in relation to p-glycoprotein content of leukemic cells from patient with acute leukemia. *Med Oncol* 1995;12:79-86.
32. Grulois I, Fardel O, Drenau B, Lamy T, Le Prisé PY, Fauhet R. Multidrug resistance in B cell chronic lymphocyte leukemia. *Acta Haematol* 1995;94:78-83.
33. Rossi JF. Chemoresistance and multiple myeloma: from biological to clinical aspects. *Stem Cells* 1995;13(Suppl 2):65-71.
34. Pieters R, Klumpler E, Kaspers GJL, Veerman AJP. Everything you always wanted to know about cellular drug resistance in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 1997;25:11-26.
35. Holzmayer TA, Hilsenbeck S, Hoff DD von, Roninson IB. Clinical correlates of mdr 1 (p-glycoprotein) gene expression in ovarian and small-cell lung carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:1458-60.
36. Kaspers GJL, Veerman AJP. Clinical and cell biological features related to cellular drug resistance of childhood acute lymphoblastic leukemia cells. *Leuk Lymphoma* 1995;19:407-16.
37. Hegewish-Becker S, Hossfeld DK. The mdr phenotype in hematologic malignancies: prognostic relevance and future perspectives. *Ann Hematol* 1996;72:105-17.
38. Fisher GA, Sikic BI. Clinical studies with modulators of multidrug resistance. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995;9:363-82.
39. Fisher GA, Lum BL, Hausdorff J, Sikic BI. Pharmacological considerations in the modulation of multidrug resistance. *Eur J Cancer* 1996;32A:1082-8.
40. Solary E, Witz B, Caillot D, Moreau P, Desablens B, Cahhn JY, et al. Combination of quinine as a potential reversing agent with mitoxantrone and cytarabine for treatment of acute leukemias: a randomized multicenter study. *Blood* 1996;88:1198-205.
41. Berman E, Mc Bride M, Lins S, Menéndez-Botet C, Tong W. Phase I trial of high-dose tamoxifen as a modulator of drug resistance in combination with daunorubicin in patients with relapsed or refractory acute leukemia. *Leukemia* 1995;9:1631-7.

42. Dalton WS, Crawley JJ, Salmon SS, Grogan TM, Laufman LR, Weiss GR, et al. A phase III randomized study of oral verapamil as a chemosensitizer to reverse drug resistance in patients with refractory myeloma. *Cancer* 1995;75:815-20.
43. Scheithaver W, Shenk T, Czejka M. Pharmacokinetic interaction between epirubicin and the multidrug resistance reversing agent D-verapamil. *Br J Cancer* 1993;68:8-9.
44. Hofmann J, Gekeler V, Ise W, Moller A, Mitterdorfer J, Hofer S, et al. Mechanism of action of dexniguldipine-HCl (B 8509-035), a new potent modulator of multidrug resistance. *Biochem Pharmacol* 1995;49:603-9.
45. Germann UA, Herding MW. Chemosensitizers to overcome and prevent multidrug resistance? *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1573-5.
46. Beketic-Oreskovic L, Duran GE, Chen G, Dumontel C, Sikic BI. Decreased mutation rate for cellular resistance to doxorubicin and suppression of *mdr 1* gene activation by cyclosporin PSC 833. *J Natl Cancer Inst* 1995;1593-602.
47. Sonneveld P, Schoester M, Leeux K de. Clinical modulation of multidrug resistance in multiple myeloma: effect of cyclosporine on resistant tumor cells. *J Clin Oncol* 1994;12:1584-91.
48. Wilson WH, Bates SE, Fojo A, Bryant G, Zhan Z, Regis J, et al. Controlled trial of dexverapamil, a modulator of multidrug resistance in lymphomas refractory to EPOCH chemotherapy. *J Clin Oncol* 1995;13:1995-2004.
49. Weber D, Dimopoulos M, Sinicrope F. VAD-cyclosporine therapy for VAD resistant multiple myeloma. *Leuk Lymph* 1995;19:159-63.

Recibido: 17 de marzo de 1998. Aprobado: 4 de junio de 1998.

Dr. Julio Fernández Águila. Hospital Provincial Clínicoquirúrgico Docente "Dr. Gustavo Aldereguía Lima", Cienfuegos, Cuba.