

# Mecanismos de resistência a drogas: como podem interferir no tratamento antineoplásico?

*Mechanisms of drug resistance: how they can interfere in cancer treatment?*

**Lucas Campos de Sá Rodrigues** - Mestre em Patologia Experimental pela FMVZ-USP. Doutor em Clínica Veterinária pela FMVZ-USP. Responsável pelo atendimento oncológico do Estima Hospital Veterinário. E-mail: lucas.rodrigues@estima.vet.br

**Sílvia Regina Ricci Lucas** - Professora Doutora do Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. E-mail: srllucas@usp.br

Rodrigues LCS, Lucas SRR. Medvop - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação; 2012; 10(33); 1-637.

## Resumo

Uma das principais causas de falhas no tratamento antineoplásico está relacionada à expressão de transportadores transmembrânicos ABC. Estas proteínas retiram das células os agentes citotóxicos, diminuindo sua concentração e tempo de ação sobre os alvos celulares e promovendo a resistência a múltiplas drogas (MDR). Sete grupos de transportadores, codificados por genes homônimos já foram identificados, sendo na medicina veterinária os transportadores ABCB1 (glicoproteína-P), ABCC (MRPs) e o ABCG2 (BCRP) os mais estudados. Alguns agentes antineoplásicos utilizados para o tratamento de cães e gatos tais como vincristina, vimblastina, doxorubicina, mitoxantrone, actinomicina D e corticoides são retirados do meio intracelular pelos transportadores ABC com conseqüente diminuição da sua ação naquelas células onde as proteínas transmembrânicas estão superexpressas. Esses transportadores já foram identificados em linfomas, neoplasias mamárias, osteossarcoma, carcinoma pulmonar, carcinoma de células de transição, entre outros. A identificação dessas proteínas em diferentes tecidos, bem como dos quimioterápicos que transportam, podem explicar as falhas encontradas no tratamento antineoplásico e permitir traçar estratégias para evitar essa resistência, definindo protocolos quimioterápicos mais efetivos.

**Palavras-chave:** resistência a múltiplas drogas, transportadores ABC, neoplasia, cães, gatos, quimioterapia.

## Abstract

The main cause of chemotherapy failure in human beings and animals is related to ABC transmembrane transporters expression. These proteins pump out of the cell chemotherapy drugs, decreasing its concentration and time of action in to the target cell. ABC transporters activity is responsible for multiple drug resistance (MDR) development. Seven different transporters, encoded by homonyms gene were already identified and ABCB1 (p-glycoprotein), ABCC (MRPs) and ABCG2 (BCRP) are the most studied in veterinary medicine. Some chemotherapy drugs used to treat dogs and cats such as vincristine, vinblastine, doxorubicin, mitoxantrone, actinomycin D and steroids are removed from the intracellular environment by the ABC transporters with consequent reduction of its action in cells where transmembrane proteins are over expressed. These transporters were identified in lymphoma, mammary tumors, osteosarcomas, lung carcinomas, transitional cells carcinoma and others. The identification of these proteins in different tissues as well as the chemotherapy agent transported, could explain the failure caused by chemotherapy treatment, and allow draw strategies to avoid such resistance, defining more effective chemotherapy protocols.

**Keywords:** multidrug resistance, ABC transporters, tumors, dogs, cats, chemotherapy.

## Introdução e Revisão de Literatura

O aumento da longevidade dos animais de companhia, consequência de melhor manejo alimentar, profilático e terapêutico possibilita, atualmente, diagnosticar doenças neoplásicas com maior frequência. Somado a isso, os avanços na medicina veterinária e a disposição dos proprietários para tratar seus animais, tornam o tratamento antineoplásico, em suas várias modalidades, uma realidade na clínica de pequenos animais.

A quimioterapia antineoplásica é a principal modalidade de tratamento dos cânceres sistêmicos em seres humanos e nos animais, podendo também ser utilizada como adjuvante após cirurgias, radioterapia, imunoterapia e associada ao uso de moduladores gênicos. É importante opção no controle da doença e na melhora da expectativa de vida de muitos animais, entretanto, em alguns casos, a neoplasia primária ou a doença metastática pode responder inicialmente à terapia e, posteriormente, as células neoplásicas acabam por adquirir resistência, inviabilizando a efetividade do tratamento (1).

### Falhas no tratamento antineoplásico

Desde sua primeira aplicação clínica em cães e gatos com linfoma (2), a quimioterapia antineoplásica apresenta ampla indicação e eficácia no controle de cânceres quimiossensíveis.

Os fármacos antineoplásicos agem impedindo a proliferação ou causando a morte das células neoplásicas. Sua ação pode ocorrer em fases específicas do ciclo celular ou independente da fase de divisão celular. São classificados em diferentes grupos com base no seu modo e local de ação: alquilantes, antracíclicos, antimetabólicos, antitubulínicos, hormônios (corticóides), enzimáticos e um pequeno grupo de agentes que não se encaixam na classificação, tais como a hidroxiuréia (3).

Em alguns casos, os cânceres podem ser refratários ao tratamento antineoplásico ou ainda, o paciente pode apresentar uma resposta inicial e deixar de responder no decorrer do tratamento (4). A falha da resposta terapêutica leva à ocorrência das recidivas e metástases. Atualmente, existe consenso entre os oncologistas de que a principal causa de falha na resposta à quimioterapia está associada à resistência das células neoplásicas aos fármacos antineoplásicos.

A eficácia da terapia antineoplásica pode ser afetada pela duração da exposição da célula a uma concentração efetiva de quimioterápicos, presença de enzimas que inativam os fármacos, alteração no transporte transmembrânico de drogas e o desequilíbrio entre vias de apoptose e de proliferação celular (5). Para evitar parte desse

processo, utiliza-se a poliquimioterapia, que consiste na combinação ordenada de agentes citotóxicos (chamados protocolos quimioterápicos) com diferentes mecanismos de ação. O principal objetivo é eliminar o maior número de células neoplásicas, com toxicidade aceitável, que não comprometa a vida do animal; dessa forma, tem-se o desenvolvimento mais lento da população de células resistentes (6). Porém, essa estratégia, isoladamente, não é capaz de impedir o desenvolvimento de resistência, pois as células neoplásicas podem desenvolver resistência simultaneamente a vários agentes antineoplásicos (resistência cruzada), impedindo seus efeitos citotóxicos ou citostáticos. Esse fenômeno é conhecido como resistência pleotrópica ou resistência a múltiplas drogas (*multidrug resistance* - MDR) (7).

### Mecanismo de resistência a drogas

Muitos mecanismos de resistência que atuam durante o tratamento antineoplásico estão presentes nas células normais e existem para protegê-las. Portanto, nas células neoplásicas, a resistência contra fármacos antineoplásicos pode estar presente antes do início do tratamento quimioterápico (resistência intrínseca) ou desenvolver-se durante o tratamento (resistência adquirida). Um dos mecanismos mais bem caracterizados de resistência das células neoplásicas aos agentes quimioterápicos é a superexpressão de transportadores ABC, tais como a glicoproteína P, proteínas de resistência a múltiplas drogas (MRP) e proteína de resistência do câncer de mama (BCRP) (8,9), além da proteína relacionada a resistência de pulmão (LRP), envolvida no transporte núcleo-citoplasmático de substâncias, mas existem outros ainda não bem compreendidos.

As proteínas da família dos transportadores ABC, termo introduzido em 1992 por Christopher Higgins (10), são organizadas estruturalmente pela combinação de domínios transmembrânicos e uma ligação com ATP (11). A característica mais marcante dessa superfamília é a sequência de 215 aminoácidos altamente conservada (ATP-binding cassette ou domínio de ligação do peptídeo - nucleotide binding domain - NBD). O domínio de ligação do peptídeo (NBD) combina proteína com fosfato para hidrólise do ATP e fornecimento de energia a vários processos celulares que não somente o transporte transmembrânico. O transportador transmembrânico ABC torna-se ativo quando o domínio de ligação do peptídeo é associado ao domínio transmembrânico hidrofóbico chamado TMD, composto por seis  $\alpha$ -hélices transmembrânicas (12,13). Esses domínios provavelmente determinam a especificidade para o substrato molecular transportado pelas proteínas ABC (13,14).

Durante o projeto de sequenciamento genômi-

co humano, 49 proteínas transportadoras ABC foram identificadas e classificadas em sete grupos: ABCA1-ABCA12, ABCB1-ABCB11, ABCC1-ABCC13, ABCD1-ABCD4, ABCE1, ABCF1-ABCF3 e ABCG1-ABCG5 (15). As proteínas da superfamília ABC estão associadas com um amplo espectro de funções fisiológicas, incluindo a detoxificação de compostos químicos, defesa contra xenobióticos, reações oxidativas, processo de absorção e secreção, metabolismo de lipídeos e apresentação de antígenos (14,15).

O aumento da expressão de transportadores transmembrânicos ABC acaba por levar ao efluxo dos quimioterápicos, diminuindo a concentração intracitoplasmática dos fármacos, ou ainda, a modificação da afinidade dos sítios de ação dos quimioterápicos nas células alvo. Da mesma forma os "vaults", que são organelas citoplasmáticas localizadas na membrana nuclear e no poro nuclear envolvidas nos transportes vesicular e núcleo citoplasmático de drogas (16), tal como a LRP, estão presentes na membrana nuclear e são capazes de transportar os agentes antineoplásicos do núcleo para o citoplasma, além de armazenar substâncias em vesículas citoplasmáticas, evitando a permanência dos agentes quimioterápicos próximo aos alvos celulares (17).

#### Principais transportadores na medicina veterinária

A glicoproteína P foi o primeiro transportador identificado em medicina veterinária e descrito em diferentes tecidos normais e neoplásicos de cães (18). É uma proteína transmembrânica de 170kDa codificada a partir do gene ABCB1/MDR1 que atua como uma bomba de efluxo ativo de fármacos na membrana plasmática das células, removendo agentes químicos do meio intracelular. O transporte realizado por essa proteína é dependente de ATP e pode ocorrer contra o gradiente de concentração (19). A expressão de glicoproteína P é frequentemente observada em diferentes cânceres humanos e nos tecidos excretórios normais como rins, trato gastrointestinal, precursores hematopoiéticos, células do sistema imune e glândulas adrenais (20). Nos cães e nos gatos, a glicoproteína P foi identificada no fígado, epitélio tubular renal proximal, córtex adrenal, epitélio do cólon, endotélio de vasos do cérebro e nos linfonodos (18,21,22).

Os agentes citotóxicos que podem levar à superexpressão (resistência adquirida) da glicoproteína P são os alcalóides da vinca (vincristina e vimblastina), antraciclina (doxorubicina, daunorrubicina, mitoxantrone), epipodofilotoxinas (etoposídeos), antibióticos (actinomicina D), taxanos (paclitaxel) e corticóides, dentre outros (Tabela 1) (13,23).

ABCB1/MDR-1	ABCC1/MRP-1	ABCG2/BCRP	LRP
Vincristina	Vincristina	Mitoxantrone	Vincristina
Vimblastina	Vimblastina	Doxorrubicina	Doxorrubicina
Doxorrubicina	Doxorrubicina	Topotecan	Etoposídeo
Daunorrubicina	Daunorrubicina	Inibidores de tirosinaquinase	
Mitoxantrone	Epipodofilotoxinas		
Epipodofilotoxinas	Camptotecinas		
Actinomicina-D	Metrotexato		
Taxanos			
Corticóides			

Fonte: Adaptado de LAGE (13), 2003 e AMBUDKAR e colaboradores, 2003

**Tabela 1** - Principais agentes antineoplásicos transportados pelos transportadores ABC.

Outros fármacos também são considerados substratos da glicoproteína P, como a ivermectina, ondasentrona, itraconazol, cetoconazol, ciclosporina, rifampicina, fenobarbital, digoxina, doxiciclina, omeprazol, anti-histamínicos (8) e loperamida (24). Esta informação é importante, uma vez que a utilização concomitante desses fármacos com antineoplásicos pode alterar a farmacocinética e toxicidade dos agentes empregados no protocolo de tratamento, além da possibilidade de indução da resistência a múltiplas drogas.

A glicoproteína-P também exerce papel importante na proteção do sistema nervoso central contra agentes químicos e representa um importante mecanismo pelo qual o sistema nervoso central controla o periférico (25). Em cães da raça Collie, aproximadamente 30 a 40% dos animais apresentam alterações neurológicas após o uso de ivermectina (26). Essa sensibilidade está relacionada à ausência da atividade da glicoproteína P na barreira hematoencefálica. Os animais sensíveis apresentam uma mutação por deleção no gene ABCB1, o que impede a síntese completa da glicoproteína P (27). Além dos cães da raça Collie, outras raças também podem apresentar mutação do gene ABCB1, tais como o Pastor de Shetland, Old English Sheep Dog e Australian Shepherds (28).

Além da ivermectina, outras lactonas macrocíclicas, tais como a moxidectina, milbemicina, selamectina, também podem causar neurotoxicidade em cães que apresentam mutações no gene ABCB1. Quando a mutação ocorre nos dois genes (homozigose) a toxicidade é intensa com o uso de todas as lactonas macrocíclicas, portanto, o uso é contraindicado nessas raças. Porém, quando a mutação ocorre em heterozigose, a toxicidade pode ser variável, sendo leve nos cães tratados com moxidectina (29) e ausente nos animais tratados com ivermectina e milbemicina (27,30).

Cães das raças citadas, que precisam ser submetidos a tratamentos antineoplásicos, podem apresentar efeitos colaterais mais graves com o uso de vincristina, vimblas-

tina e doxorrubicina, devido à diminuição de atividade da glicoproteína P (31).

Outro grupo de transportadores são as proteínas conhecidas como MRP ou Proteínas *Associadas à Resistência a Múltiplas Drogas* (32,33), Nessa família de transportadores, nove membros foram descritos no estudo do genoma humano, conhecidos originalmente por MRP1 ao MRP9 que correspondem, atualmente, a ABCC1 até ABCC6 e ABCC10 a ABCC12. ABCC1/MRP1 foi o primeiro a ser identificado, e corresponde a uma proteína de 190kDa que possui um domínio N-terminal extra que o difere da glicoproteína P (34,35). Ao contrário da glicoproteína P, que está expressa principalmente em tecidos que funcionam como barreiras, a proteína ABCC1/MRP1 está expressa na maioria dos tecidos (23).

Os agentes antineoplásicos que são transportados para o meio extracelular pela proteína ABCC1/MRP1 são os antracíclicos doxorrubicina (36) e daunorrubicina (37); os alcalóides da vinca vincristina e vimblastina (36); epipodofilotoxinas, camptotecinas (37) e metotrexato (35). Entretanto, os transportadores ABCC1/MRP1 não são capazes de conferir resistência aos taxanos (33,34,38,39,40). Outros substratos incluem os antivirais sequinavir (41), ritonavir (42), além de antibióticos como difloxacina e grepafloxacina (42).

Alguns outros transportadores transmembrânicos que podem conferir o fenótipo MDR foram identificados em seres humanos e nos animais e vêm sendo estudados. O mais recentemente identificado em cães foi o chamado ABCG2/BCRP (43), transportador dependente de ATP inicialmente isolado na linhagem celular de neoplasia mamária MCF-7/AdrVp em 1998 (44,45), e por isso denominado *Breast Cancer Resistance Protein* (BCRP). Essa descoberta ocorreu pela observação da persistência da resistência a drogas em cultura de células MCF-7/ADRVp, após o bloqueio funcional da glicoproteína P pela ação do verapamil (45).

Em seres humanos, ABCG2/BCRP é expressa em diversos tecidos incluindo placenta, fígado, rins, intestino e cérebro (19,46). É uma proteína de 72kDa composta por 665 aminoácidos, capaz de promover a extrusão do mitoxantrone (47,48), doxorrubicina e topotecan (48) além de camptotecina (49) e inibidores de tirosinaquinase (50), sendo considerado o transportador transmembrânico de maior importância relacionado às falhas no tratamento (13).

Uma outra proteína, a LRP, também é capaz de regular o transporte de agentes químicos. LRP foi identificada em 1986 como uma proteína de resistência do pulmão (*Lung Resistance Related Protein*), detectada inicialmente em células de câncer de pulmão resistentes a múltiplas drogas, por mecanismo não associado a ABCB1/glico-

proteína P (51,52) e que os pesquisadores notaram ser idêntica à maior proteína do grupo "vault" (16,51). Além do câncer de pulmão, a proteína foi também associada a leucemias, linfomas e tumores sólidos (16,17).

Estudos relacionaram a expressão da LRP à resistência a agentes alquilantes como o melfalano, no caso de mieloma múltiplo (17) e também à vincristina, carboplatina, cisplatina, etoposídeo, paclitaxel e gramicidina D (53). Também foi associada a menor sobrevida e comprometimento da resposta terapêutica em casos de linfoma de células B (53).

### Implicações clínicas da resistência a múltiplas drogas

Os transportadores ABC foram identificados em diferentes neoplasias em cães e gatos por meio de diferentes técnicas. A glicoproteína P se destaca por ser o alvo de maior número de estudos. Foi identificada por imunistoquímica e relatada por Ginn (18) em um estudo com 166 amostras de 17 tipos de neoplasias epiteliais e mesenquimais. Dentre as neoplasias epiteliais destacavam-se os adenomas e carcinomas de glândula mamária, carcinomas de células escamosas, hepatoma, colangiocarcinoma, carcinoma de células de transição da bexiga, entre outros (Tabela 2) (18). Fibrossarcoma, fibroma, hemangiopericitoma, leiomioma, leiomiossarcoma e melanoma são as neoplasias mesenquimais que apresentaram marcação na membrana celular, além das neoplasias de célula redondas linfoma e plasmocitoma cutâneo (18).

ABCB1/MDR-1	ABCC1/MRP-1	ABCG2/BCRP	LRP
Adenoma mamário	Carcinoma mamário	Carcinoma mamário	Carcinoma pulmonar
Carcinoma mamário	Carcinoma pulmonar	Linfoma	Linfoma
Carcinoma de células escamosas	Linfoma		
Hepatoma			
Colangiocarcinoma			
Carcinoma de células de transição			
Fibroma			
Fibrossarcoma			
Hemangiopericitoma			
Leiomioma			
Leiomiossarcoma			
Melanoma			
Linfoma			
Plasmocitoma cutâneo			
Carcinoma pulmonar			

Fonte: Adaptado de GINN, 1996 (18)

**Tabela 2** - Expressão de transportadores ABC em diferentes neoplasias em cães e gatos.

No caso do linfoma canino, cuja terapia é quase que exclusivamente sistêmica e recidivas e falhas no tratamento são observadas frequentemente, os transportadores ABC são comumente estudados. Mesmo com poliquimioterapia, as recidivas ocorrem pouco tempo após o período de indução da remissão. Na década de 1990, estudos já apontavam que uma alta expressão da glicoproteína P seria o principal fator que levaria a resistência a múltiplas drogas (54,55,56), entretanto, a expressão dos transportadores e sua influência no tratamento variam de acordo com o tipo de neoplasia.

Como exemplo, a utilização de corticóides previamente ao início do tratamento antineoplásico do linfoma canino foi contraindicada pela capacidade de aumentar a expressão de glicoproteína P (54,55). Entretanto, no carcinoma mamário papilífero e carcinoma mamário tubular simples em cadelas, a administração de prednisona por 15 dias, atenuou ou eliminou a marcação imunistoquímica de glicoproteína-P na membrana celular, o que sugeriu diminuição da expressão e possibilidade de melhor resposta ao tratamento (57). Considerando ainda as neoplasias mamárias, Honscha e colaboradores (58) sugeriram que possivelmente não existiria benefício no uso de doxorubicina no tratamento de neoplasias mamárias, após identificarem alta expressão dos transportadores ABCC1 e ABCG2, para os quais a doxorubicina é substrato, na totalidade das 103 amostras estudadas, além da expressão, em menor proporção, de outros cinco transportadores associados.

Em outro exemplo, o carcinoma pulmonar em cães e gatos é considerado uma neoplasia resistente aos agentes antineoplásicos. Isso pode estar relacionado ao fato de apresentar alta expressão de ABCB1, ABCC1 e LRP, identificados na totalidade das 52 amostras de neoplasias pulmonares em cães estudadas por Hifumi e colaboradores (59), o que explicaria a dificuldade encontrada pelos oncologistas em controlar as neoplasias pulmonares com quimioterapia.

Um estudo realizado com osteossarcoma canino verificou que a expressão de glicoproteína P induzida pela doxorubicina, foi capaz de conferir resistência cruzada à vincristina, utilizada posteriormente, reduzindo sua citotoxicidade. Sabe-se que a vincristina e doxorubicina pertencem a grupos farmacológicos diferentes, são estruturalmente diferentes, porém ambas são substratos para glicoproteína P (30). Embora esse estudo tenha sido realizado *in vitro*, o mesmo princípio pode ser aplicado *in vivo* na escolha de agentes quimioterápicos, principalmente em protocolos de resgate, utilizando fármacos que não dependam dos mesmos transportadores, conseguindo assim melhor eficácia no tratamento.

Ao contrário dos agentes antimicrotúbulos e antra-

cíclicos, os alquilantes não são afetados pelo fenótipo MDR mediado pela glicoproteína P e raramente ocorre resistência cruzada neste grupo de antineoplásicos (60). Dessa maneira, tomando o linfoma como exemplo, os protocolos de resgate que utilizam agentes alquilantes parecem ser mais efetivos (60). O protocolo de resgate MOPP (mecloretamina, vincristina, procarbazona e prednisona), contém dois agentes alquilantes: mecloretamina e procarbazona. Nesse caso, a vincristina e a prednisona podem ter sua ação alterada pela expressão de ABCB1/glicoproteína P. Entretanto, como o tratamento tem boa resposta, acredita-se que a vincristina e a prednisona possam atuar nas células neoplásicas após ação da mecloretamina e procarbazona, que induziriam apoptose nas células com fenótipo MDR, restando as células não resistentes (60).

Por meio de RT-PCR e Dot Blotting, a expressão dos genes de resistência ABCB1/MDR, ABCC1/MRP e LRP e de seus respectivos produtos foi estudada em cães com linfoma multicêntrico. Ao diagnóstico, animais que não tinham recebido tratamento prévio apresentaram 93,3% de expressão dos genes e 85,8%, 71,5% e 85,8%, respectivamente, de glicoproteína P, MRP e LRP. Esses animais foram tratados e, quando apresentaram recidiva da doença, os genes foram novamente avaliados, apresentando 100% de expressão e aumento da expressão das proteínas para 92,9% considerando glicoproteína P/ABCB1 e MRP/ABCC1 e 100% para LRP (61).

Em um estudo mais recente utilizando RT-PCR quantitativa, Rodrigues (62), analisou a expressão dos genes ABCB1, ABCC1 e ABCG2 em 25 cães com linfoma multicêntrico antes do tratamento e no momento da recidiva e verificou que, embora não houvesse correlação entre a quantificação e a resposta terapêutica, os genes estavam expressos em todos os casos.

### É possível bloquear o mecanismo de resistência?

A observação do envolvimento dos transportadores transmembrânicos com a resistência aos quimioterápicos levou muitos pesquisadores a estudar a ação de alguns fármacos no bloqueio ou modulação da atividade dessas proteínas, com o intuito de potencializar a ação dos antineoplásicos no interior das células (63). As principais pesquisas concentram-se na exploração direta do segundo uso de fármacos, ou seja, princípios ativos que são utilizados em função de determinada atividade farmacológica, mas que, secundariamente, revertem o fenótipo MDR (64). A atividade da glicoproteína P pode ser revertida com o uso de verapamil, além da ciclosporina, tamoxifeno, progestágenos entre outros (65). Porém, a concentração eficaz desses compostos capaz de inibir *in vitro*, a glicoproteína P, seria muito alta e tóxica quando utilizada

em pacientes, pela exacerbação do efeito principal, sendo esta, uma das principais limitações do uso rotineiro desses fármacos (63).

A associação de verapamil em altas doses com vimblastina induziu o aumento da citotoxicidade do antineoplásico, mas não conseguiu acabar com a resistência tumoral completamente (66). Isso provavelmente aconteceu, pois os compostos capazes de bloquear efetivamente a atividade da glicoproteína P têm pouca atividade na inibição do MRP1 e MRP2 (35) e de outros mecanismos que podem estar envolvidos no processo. Na medicina veterinária, os bloqueadores de glicoproteína P não foram testados. De qualquer forma, estudos vêm sendo realizados para que se verifique a segurança e eficácia da utilização de inibidores de transportadores de membrana, associados ao tratamento antineoplásico (64). Além disso, estratégias diferentes para modulação de MDR como encapsular o quimioterápico com uma substância que não sofra extrusão pelos transportadores transmembrânicos, seja em microsferas, lipossomas ou nanopartículas também vêm sendo estudadas.

## Considerações finais

Os transportadores de membrana ABC representam a principal causa de insucesso no tratamento quimioterápico antineoplásico, ocasionando a recidiva da doença, que acaba por levar ao óbito do animal. De modo geral, os estudos indicam que o fenótipo MDR provavelmente é decorrente da atividade de vários transportadores e não somente da glicoproteína P. Com o desenvolvimento de técnicas moleculares, a identificação dessas proteínas e sua importância nos diferentes tipos de neoplasias, bem como sua modulação e diferenças de expressão, relacionadas aos diferentes fármacos utilizados no tratamento, pode orientar a opção racional do uso de determinados agentes neoplásicos para tratar neoplasias específicas. Além disso, existe a possibilidade de desenvolvimento de fármacos que podem bloquear as proteínas transmembrânicas ou ainda, associar o antineoplásico a nanopartículas permitindo que os quimioterápicos consigam atingir os alvos celulares sem que sua eficácia ou ação seja reduzida pela atividade das proteínas transmembrânicas.

## Referências

1. GONZALEZ, T. P.; SCHIENGOLD, M.; CHIES, J. A. B. Implicações clínicas dos Polimorfismos do gene de resistência a múltiplas drogas MDR1 (ABCB1).

Revista Brasileira de Biociências, v. 4, n. 3/4, p. 27-38, 2006.

2. BRICK, J.O.; ROENIGK, W.J.; WILSON, G.P. Chemotherapy of malignant lymphoma in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 153, n. 1, p. 47-52, 1968.
3. CHUN, R.; GARRETT, L. D.; VAIL, D. M. Cancer chemotherapy. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. *Small Animal Clinical Oncology*, 4. ed. St Louis: Saunders Elsevier, 2007. p.163-192.
4. LUQMANI, Y.A. Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy. *Medical principles and practice: International Journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, v. 14, n. 1, p. 35-48, 2005.
5. CHUN, R.; GARRETT, L. D.; VAIL, S. M. Cancer chemotherapy. In: WITHROW, S.J.; VAIL, D.M. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*, 4th ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2007. p. 163-192.
6. NORTH, S.; BANKS, T. *Introduction to Small Animal Oncology*, 1st ed. Philadelphia: Saunder Elsevier, 2009. p. 31-43.
7. GOTTESMAN, M. M.; FOJO, T.; BATES, S. E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nature*, v. 2, p. 48-58, 2002.
8. BERGMAN, P. J. Mechanisms of anticancer drug resistance. *The Veterinary Clinics - of North America Small Animal Practice*, v. 33, p. 651-667, 2003.
9. BRACHT, K.; KIFER, T.; DÖLKEN, G.; BEDNARSKI, P. J. Characterization of three B-cell lymphoma cell lines from chemotherapy resistant patients with respect to in vitro sensitivity to 21 antitumor agents, ABC-transportes expression and cellular redox status. *Journal of Cancer Research Clinical Oncology*, v. 133, p. 957-967, 2007.
10. HIGGINS, C. F. ABC transporters: From microorganisms to man. *Annual Review of Cell Biology*, v. 8, p. 67-113, 1992.
11. CHOUDHURI, S.; KLAASSEN, C. Structures, function, expression, genomic organization, and single nucleotide polymorphisms of human ABCB1 (MDR1), ABCC (MRP), and ABCG2 (BCRP) efflux transporters. *International Journal of Toxicology*, v.25, p. 231-59, 2006.
12. STENHAM, D. R.; CAMPBELL, J. D.; SANSOM, M. S.; HIGGINS, C. F.; KERR, I. D.; LINTON, K. J. An atomic detail model for the human ATP binding cassette transporter P-glycoprotein derived from disulfide cross-linking and homology modeling. *The FASEB Journal*, v. 17, n. 15, p. 2287-2289, 2003.
13. LAGE, H. ABC-transporters: implications on drug resistance from microorganisms to human cancers. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 22, n. 3, p. 188-199, 2003.
14. GLAVINAS, H.; KRAJCSI, P.; CSEREPES, J.; SARKADI, B. The role of ABC transporters in drug resistance metabolism and toxicity. *Current Drug Delivery*, v. 1, n. 1. p. 27-42, 2004.
15. KUO, M. T.; BEDNARSKI, P.; KOHNO, K.; SALENO, M.; TARASIUK, J.; ZUNINO, F. Redox regulation of multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Antioxidant Redox Signalization*, v. 11, n.1, p. 99-134, 2009.
16. SCHFFER, G.L.; WIJNGAARD, P.L.; FLENS, M.J.; IZQUIERDO, M. A.; SLOVAK, M. L.; PINEDO, H. M. et al. The drug resistance-related protein LRP is the human major vault protein. *Nature Medicine*, v. 1, n. 6, p. 578-582, 1995.
17. MOSSINK, M.H.; VAN ZON, A.; CHEPER, R.J.; SONNEVELD, P.; WIEMER, E.A.C. Vaults: a ribonucleoprotein particle involved in drug resistance? *Oncogene*, v. 22, n. 47, p. 7458-7467, 2003.
18. GINN, P. E. Immunohistochemical detection of P-glycoprotein in formalin-fixed and paraffin-embedded normal and neoplastic canine tissues. *Veterinary Pathology*, v. 33, p. 533-541, 1996.
19. BREEDVELD, P.; BEIJNEN, J. N.; SCHELLEN, J. H. Use of p-glycoprotein and BCRP inhibitors to improve oral bioavailability and CNS penetration of anticancer drugs. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 27, n. 1, p. 17-24, 2006.
20. MARZOLINE, C.; PAUS, E.; BUCLIN, T.; KIM, R. B. Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): Recent advances and clinical relevance. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, v. 75, n. 1, p. 13-33, 2004.

## Mecanismos de resistência a drogas: como podem interferir no tratamento antineoplásico?

21. SCHLEIS EFFER, G. L.; WIJNGAARD, P. L.; FLENS, M. J.; IZQUIERDO, M. A.; SLOVAK, M. L.; PINEDO, H.M., et al. The drug resistance-related protein LRP is the human major vault protein. *Nature Medicine*, v. 1, n. 6, p. 578-582, 1995.
22. VAN DER HEYDEN, S.; CHIERS, K.; DUCATELLE, R. Tissue distribution of p-glycoprotein in cats. *Anatomia, histologia, embryologia*, v.38, n. 6, p. 455-460, 2009.
23. AMBUDKAR, S. V.; KIMCHI-SAFARTY, C.; SAUNA, Z. E.; GOTTESMAN, M. M. P-glycoprotein: from genomics to mechanism. *Oncogene*, v. 22, p. 7468-7485, 2003.
24. SARTOR, L. L.; BENTJEN, S. A.; TREPANIER, L.; MEALEY, K. L. Loperamide toxicity in a collie with the MDR1 mutation associated with ivermectin sensitivity. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 18, n. 1, p. 117-118, 2004.
25. KING, M.; SU, W.; CHANG, A.; ZUCKERMAN, A.; PASTERNAK, G.W. Transport of opioids from the brain to the periphery by P-glycoprotein: peripheral actions of central drugs. *Nature Neuroscience*, v.4, n.3, p.268-274, 2001.
26. MEALEY, K.L.; BENTJEN, S.A.; WAITING, D.K. Frequency of the mutant MDR1 allele associated with ivermectin sensitivity in a sample population of collies from the northwestern United States. *American Journal of Veterinary Research*, v. 63, p. 479-481, 2002.
27. MEALEY, K.L.; BENTJEN, S.A.; GAY, J.M.; CANTOR, G.H. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene. *Pharmacogenetics*, v.11, n. 8, p. 727-733, 2001.
28. NEFF, M.W.; ROVERTSON, K.R.; WONG, A.K.; SAFRA, N.; BROMAN, K.W.; SLATKIN, M. et al. Breed distribution and history of canine *mdr1-1Delta*, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, v.101, n. 32, p. 11725-11730, 2004.
29. BARBET, J.L.; SNOOK, T.; GAY, J.M.; MEALEY, K.L. ABCB1-1Delta (MDR-1Delta) genotype is associated with adverse reactions in dogs treated with milbemycin oxime for generalized demodicosis. *Veterinary Dermatology*, v.22, n.2, p.111-114, 2009.
30. MEALEY, K.L.; FIDEL, J.; GAY, J.M.; IMPELLIZERI, J.A.; CLIFFORD, C.A.; BERGMAN, P.J. ABCB1-1Δ polymorphism can predict hematologic toxicity in dogs treated with vincristine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 22, p. 996-1000, 2008.
31. MEALEY, K.L.; NORTHRUP, N.C.; BENTJEN, S.A. Increased toxicity of p-glycoprotein-substrate chemotherapeutic agents in a dog with the MDR1 deletion mutation associated with ivermectin sensitivity. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 223, n. 10, p. 1453-1455, 2003.
32. BRENDDEL, M.; ZENTNER, J. Brain-tumour drug resistance: the bare essentials. *Lancet Oncology*, v. 3, n. 7, p. 397-406, 2002.
33. KRUIH, G. D.; YANPING, G.; HOPPER-BORGE, E.; BELINSKY, M. G.; CHEN, Z. S. ABCB10, ABCB11, and ABCB12. *European Journal of Applied Physiology*, v. 453, p. 675-684, 2007.
34. COLE, S. P.; DEELEY, R. G. Multidrug resistance mediated by the ATP-binding cassette transporter protein MRP. *Bioessays*, v. 33 p. 920-931, 1998.
35. BORST, P.; EVERS, R.; KOOL, M.; WIJHHOLDS, J. A family of drug transporters: The multidrug resistance-associated proteins. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 92, n. 16, p. 1295-1302, 2000.
36. CONRAD, S.; KAUFFMANN, H. M.; ITO, K.; LESLIE, E. M.; DEELEY, R. G.; SCHRENK, D., et al. A naturally occurring mutation in MRP1 results in a selective decrease in organic anion transport and in increased doxorubicin resistance. *Pharmacogenetics*, v. 12, p. 321-330, 2002.
37. ZHAN, Z.; SANDOR, V. A.; GAMELIN, E.; REGIS, J.; DICKSTEIN, B.; WILSON, W. et al. Expression of the multidrug resistance-associated protein gene in refractory lymphoma: quantitation by a validated polymerase chain reaction assay. *Blood*, v. 89, n. 10, p. 3797-800, 1997.
38. ZAMAN, G. J.; FLENS, M. J.; VAN LEUSDEN, M. R.; DE HAAS, M.; MULDER, H.S.; LANKELMA, J. et al. The human multidrug resistance-associated protein MRP in a plasma membrane drug-efflux pump. *Proceeding of the National Academy of Science of the United States of American*, v. 91, v. 19, p. 8822-8826, 1994.
39. BREUNINGER, L.M.; PAUL, S.; GAUGHAN, K.; MIKI, T.; CHAN, A.; AARONSON, A.A. et al. Expression of multidrug resistance-associated protein in NIH/3T3 cells confers multidrug resistance associated with increased drug efflux and altered intracellular drug distribution. *Cancer Research*, v. 55, n. 22, p. 5342-5347, 1995.
40. CHEN, Y. N.; MICKLEY, L. A.; SCHWARTZ, A. M.; ACTON, E. M.; HWANG, J. L.; FOJO, A. T. Characterization of adriamycin-resistant human breast cancer cells which display overexpression of a novel resistance-related membrane protein. *The Journal of the Biological Chemistry*, v. 265, p. 10073-10080, 1990.
41. JANNEH, O.; OWEN, A.; CHANDLER, B.; HARTKOORN, R.C.; HART, C.A.; BRAY P.G. et al. Modulation of intracellular accumulation of saquinavir in peripheral blood mononuclear cells by inhibitors of MRP1, MRP2, P-gp, and BCRP. *AIDS*, v. 19, v. 18, p. 2097-2102, 2005.
42. DEELEY, R. G.; COLE, S. P. Substrate recognition and transport by multidrug resistance protein 1 (ABCC1). *FEBS Letters*, v. 580, p. 1103-1111, 2006.
43. TOMIYASU, H.; GOTO-KOSHIO, Y.; TAKAHASHI, M.; FUJINO, Y.; OHNO, K.; TSUJIMOTO, H. Quantitative analysis of mRNA for 10 different drug resistance factors in dogs with lymphoma. *Journal of Veterinary Medical Science*, v.72, n.9, p. 1165-1172, 2010.
44. ALLIKMETS, R.; SCHRIML, L. M.; HUTCHINSON, A.; ROMANO-SPICA, V.; DEAN, M. A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on chromosome 4q22 that is involved in multidrug resistance. *Cancer Research*, v. 58, p. 5337-5339, 1998.
45. DOYLE, L. A.; YANG, W.; ABRUZZO, L. E.; KROGMANN, T.; GAO, Y.; RISHI, A. K.; ROSS, D. D. Cloning and characterization of breast cancer resistance protein (BCRP), a novel ATP-binding cassette (ABC) transporter that may contribute to the multidrugresistance phenotype of MCF-7/AdrVp breast cancer cells. *Proceedings of the American Association for Cancer Research*, v. 39, 1998.
46. CERVENAK, J.; ANDRIKOVICS, H.; OZVEGY-LACZKA, C.; TORDAI, A.; NEMET, K.; VARADI, A., et al. The role of the human ABCG2 multidrug transporter and its variants in cancer therapy and toxicology. *Cancer Letters*, v. 234, p. 62-72, 2006.
47. ROSS, D.D.; KARP, J.E.; CHEN, T.T.; DOYLE, L.A. Expression of breast cancer resistance protein in blast cells from patients with acute leukemia. *Blood*, v. 96, n. 1, p. 365-368, 2000.
48. MALIEPAARD, M.; SCHEFFER, G. L.; FANEYTE, I. F.; VAN GASTELEN, M, A, PIJNENBORG, A. C.; SCHINKEL, A. H. et al. Subcellular localization and distribution of the breast cancer resistance protein transporter in normal human tissues. *Cancer Research*, v. 61, n. 8, p. 3458-3464, 2001.
49. KAWABATA, S.; OKA, M.; SHIOZAWA, K.; TSUKAMOTO, K.; NAKATOMI, K.; SODA, H. et al. Breast cancer resistance protein directly confers SN-38 resistance of lung cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, v. 280, n. 5, p. 1216-1223, 2001.
50. OZVEGY-LACZKA, C.; CSEREPES, J.; ELKIND, N. B.; SARKADI, B.; Tyrosine kinase inhibitor resistance in cancer: role of ABC multidrug transporters. *Drug Resistance Updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, v. 8, n. 1-2, p. 15-26, 2005.
51. RAAIJMAKERS, H. G. P.; IZQUIERDO, H. M.; LOKHORST, H. M.; LEEUW, C. D. E.; BELIEN, J. A. M.; BLOEM, A. C. et al. Lung-resistance-related protein expression is a negative predictive factor for response to conventional low but not to intensified dose alkylating chemotherapy in multiple myeloma. *Blood*, v. 91, n. 3, p. 1029-1036, 1998.
52. OHNO, N.; TANI, A.; UOZUMI, K.; HANADA, S.; FURUKAWA, T.; AKIBA, S.; SUMIZAWA, T. Expression of functional lung resistance-related protein predicts poor outcome in t-cell leukemia. *Blood*, v. 98, n. 4, p. 1160-1165, 2001.

## Mecanismos de resistência a drogas: como podem interferir no tratamento antineoplásico?

53. FILIPITS, M.; JAEGER, U.; SIMONITSCH, I.; CHIZZALI-BONFADIN, C.; HEINZL, H.; PIRKER, R. Clinical relevance of the lung resistance protein in diffuse large B-cell lymphomas. *Clinical Cancer Research*, v. 6, n. 9, p. 3417-3423, 2000.
54. MOORE, A. S.; LEVEILLE, C. R.; REIMANN, K. A.; SHU, H.; ARIAS, A. M. The expression of P-glycoprotein in canine lymphoma and its association with multidrug resistance. *Cancer Investigation*, v. 13, n. 5, p. 475-479, 1995.
55. BERGMAN, P. J.; OGILVIE, G. K.; POWERS, B. E. Monoclonal antibody C219 immunohistochemistry against P-glycoprotein: sequential analysis and predictive ability in dogs with lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 10, n. 6, p. 354-359, 1996.
56. LEE, J.J.; HUGHES, C.S.; FINE, R.L.; PAGE, R.L. P-glycoprotein expression in canine lymphoma: a relevant, intermediate model of multidrug resistance. *Cancer*, v.77, p. 1892-1898, 1996.
57. ANDRADE, A. L.; LUVIZOTTO, M.C.R.; CRUSCO, S.E.; FERRARI, H.F.; LOPES, R.A. Avaliação imunistoquímica da expressão da glicoproteína-P em tumores de mama de cadelas tratadas com prednisona. *Veterinaria e Zootecnia*, v.15, n.1, p. 75-84, 2008.
58. HONSCHA, K. U.; SCHIRMER, A.; REISCHAUER, A.; SCHOON, H-A.; EINS-PANIER, A.; GABEL, G. Expression of ABC-transport protein canine mammary cancer: consequences of chemotherapy. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 44, p. 218-223, 2009.
59. HIFUMI, T.; MIYOSHO, N.; KAWAGUCHI, H.; NOMURA, K.; YASUDA, N. Immunohistochemical detection of proteins associated with multidrug resistance to anti-cancer drugs in canine and feline primary pulmonary carcinoma. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 72, n.5, p. 665-8, 2010.
60. RASSNICK, K. M.; MAUDIN, G. E.; AL-SARRAF, R.; MAULDIN, G. N.; MOORE, A. S.; MOONEY, S. C. MOPP chemotherapy for treatment of resistant lymphoma in dogs: a retrospective study of 117 cases (1989-2000). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 16, p. 576-580, 2002.
61. REZENDE, B. C. G. Estudo da resistência a múltiplas drogas no linfoma canino. 2005. 121p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
62. RODRIGUES, L.C.S. Estudo da expressão dos genes de resistência a múltiplas drogas ABCB1, ABCC1 e ABCC2, em cães com linfoma multicêntrico, submetidos a três diferentes protocolos de tratamento antineoplásico. 2011. 146p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
63. HARRIS, A.L.; HOCHHAUSER, D. Mechanism of multicentric resistance cancer treatment. *Acta Oncologica*, v. 31, n. 2, p. 205-213, 1992.
64. HUBER, P.C.; MARUIAMA, C.H.; ALMEIDA, V.P. Glicoproteína P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. *Química Nova*, v.33, n.10, p.2148-2154, 2010.
65. LEYLAND-JONE, B.; DALTON, W.; FISHER, G.A.; SIKIC, B.I. Reversal of multidrug resistance to cancer chemotherapy. *Cancer*, v.72, p. 3484-3488, 1993.
66. MICKISCH, G.H.; ROEHRICH, K.; KOESSIG, J.; FORSTER, S.; TSCHADA, R.K.; ALKEN, P.M. Mechanisms and modulation of multidrug resistance in primary human renal cell carcinoma. *The Journal of Urology*, v. 144, n. 3, p. 755-759, 1990.

Recebido para publicação em: 03/10/2011.

Enviado para análise em: 23/02/2012.

Aceito para publicação em: 29/05/2012.