

Review

La glicoproteína-P: implicancia en la farmacocinética y la farmacodinamia de drogas

P-glycoprotein: Implication in drug pharmacokinetics and pharmacodynamics

Paula Schaiquevich¹, María del Pilar Hermida¹ y Modesto C. Rubio^{1,2}

¹ Instituto de Investigaciones Farmacológicas, ININFA-CONICET.

² Cátedra de Farmacología, Junín 956, 5º piso (1113), Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Buenos Aires, Argentina.
paulas@ffyb.uba.ar

Tabla de contenidos

- Resumen-Summary	50
- Introducción	51
- La Glicoproteína-P: transportador de eflujo	51
- Especificidad de los sustratos de la Glicoproteína-P	52
- Expresión y función en tejidos	55
- Conclusión	59
- Referencias bibliográficas	60

Resumen

La glicoproteína-P es el transportador de eflujo perteneciente al grupo de proteínas ligadoras de ATP más estudiado. La proteína funciona como transportador de eflujo disminuyendo las concentraciones intracelulares de los sustratos. La localización anatómica y su actividad de extrusión de toxinas y xenobióticos del interior celular, sugieren que la proteína podría estar involucrada en la protección del organismo contra los xenobióticos por limitar su entrada y contribuir en su excreción. Además, dada la amplia distribución y expresión en tejidos normales, desempeña un papel importante en la disposición y la eliminación de drogas. La expresión aumentada de la glicoproteína-P en tejidos tumorales, en muchos casos, se relaciona con mecanismos de resistencia a los fármacos. Ciertas interacciones entre drogas se atribuyen a la inhibición e inducción de la glicoproteína-P. Para evaluar la incidencia de la modulación

Summary

P-glycoprotein is the most studied efflux transporter that belongs to the group of ATP binding proteins. This protein works as an efflux transporter that decreases the intracellular concentration of its substrates. Both its anatomic localization and its toxin and xenobiotic extrusion activity from the intracellular place suggest that the protein could be involved in the body protection against xenobiotics by limiting their entry and contributing with their excretion. Furthermore, because its wide distribution and expression in normal tissues, it plays an important role in drug disposition and elimination. In many cases, an over expression of P-glycoprotein in normal tissues is related to drug resistance mechanisms.

Some drug interactions are attributed to the inhibition or induction of P-glycoprotein. Different clinical studies are being developed to assess the incidence of the transporter modulation

del transportador en la terapéutica farmacológica de la enfermedad se están desarrollando diversos estudios clínicos.

El objetivo de este artículo es realizar una reseña sobre el estado de conocimiento de la glicoproteína-P y de los compuestos sustratos, inhibidores e inductores, su papel en los mecanismos de absorción, distribución, metabolización y eliminación de fármacos y las interacciones entre drogas donde se ha detectado su participación.

Palabras claves

Glicoproteína-P, farmacocinética, interacciones.

on the pharmacological therapeutics of disease states.

The aim of the present work is to review about the actual knowledge of P-glycoprotein, its substrates, inhibitors and inductors, its role in drug absorption, distribution, metabolism and elimination mechanisms, and the drug-drug interaction where its participation has been reported.

Key words

P-glycoprotein; pharmacokinetics, drug-drug interactions.

Introducción

La resistencia al tratamiento con agentes antineoplásicos es una de las principales causas de falla en el tratamiento quimioterápico de enfermos con cáncer. El paciente puede desarrollar o adquirir resistencia durante el tratamiento farmacológico. En la década de 1970 se detectó que el paciente podía desarrollar resistencia cruzada a determinados agentes citotóxicos a los que no había sido expuestos previamente (1).

Esa observación llevó al concepto de resistencia a múltiples drogas (*multidrug resistance* o MDR), debido a cambios hereditarios expresados en niveles alterados de proteínas específicas en las células cancerosas, o a mutaciones que les permitirían a las células cancerosas sobrevivir en presencia de agentes citotóxicos.

Uno de los mecanismos de adquisición de resistencia consiste en la expresión elevada de proteínas de membrana que bombean el agente quimioterápico hacia el exterior de la célula disminuyendo las concentraciones citotóxicas en su interior. Dentro de la familia de proteínas transportadoras dependientes de ATP relacionadas con el fenómeno de resistencia a múltiples drogas se encuentra la fosfo-glicoproteína o glicoproteína-P (P-gp, de peso molecular 170 kDa).

Asimismo, se ha demostrado la expresión constitutiva de la glicoproteína-P en tejidos humanos normales. Estos tejidos forman parte de órganos involucrados en la absorción y dis-

posición de drogas, lo que ha llevado a la hipótesis de que la P-gp ha evolucionado como un mecanismo de defensa para limitar la entrada y la distribución, y facilitar la eliminación de sustancias potencialmente tóxicas a las que puede estar expuesto el hombre y los animales.

Considerando el amplio espectro de sustratos y la distribución en tejidos, la modulación de la actividad de la P-gp puede resultar en modificaciones en la disposición de los sustratos y, por lo tanto, en la biodisponibilidad de drogas que produce consecuencias en la terapéutica clínica. Actualmente esta es un área en estudio muy importante para lograr el incremento de la actividad farmacológica de ciertas drogas y, en otros casos, disminuir los efectos adversos e interacciones entre drogas.

La Glicoproteína-P: transportador de eflujo

La Glicoproteína-P integra la superfamilia de transportadores de eflujo que ligan ATP o *ATP binding cassette* (ABC), que en los mamíferos cuenta con alrededor de 50 miembros. Entre los integrantes destacados se encuentran la proteína relacionada a resistencia a múltiples drogas (MRP), la bomba de secreción biliar (BSEP), la proteína de resistencia en cáncer de mama (BCRP) - y sus análogos MXR, ABCP, ABCG2- , la proteína de resistencia pulmonar (LRP-56) y el regulador transmembranal de fibrosis quística (CFTR). Los transportadores mencionados comparten características simila-

res de inserción en la membrana plasmática y tienen dominios intracelulares para la unión de nucleótidos (NBD).

En los mamíferos se han hallado dos tipos de glicoproteína-P, una asociada al transporte de drogas, y otra relacionada con la translocación

de fosfatidilcolina, MDR1 en humanos y *mdr1* en animales, y MDR3 en humanos *mdr2* para animales, respectivamente (Tabla 1). El producto del gen MDR1 en humanos y de los genes *mdr1a/b* (o *mdr3* y *mdr1*) en roedores (2, 3, 4, 5) presenta un peso molecular de 170 kDa.

Tabla 1. Nomenclatura de los productos de expresión de los genes de resistencia a múltiples drogas en diferentes especies.

CLASE	HUMANO	RATÓN	HAMSTER	RATA
1A	MDR1	<i>mdr1a</i> (ó <i>mdr3</i>)	<i>pgp1</i>	<i>pgp1</i>
1B	-	<i>mdr1b</i> (ó <i>mdr1</i>)	<i>pgp2</i>	<i>mdr1b</i>
2	MDR3 (ó MDR2)	<i>mdr2</i>	<i>pgp3</i>	<i>pgp3</i>

Los genes MDR de humanos se han localizado de manera adyacente en el brazo largo del cromosoma 7, mientras que en ratones se localiza en el cromosoma 5. La expresión del gen MDR1 depende de la transcripción mediada por la proteinquinasa dependiente de adenosin-5-monofosfato así como también la cascada de señalización Raf y aquella controlada por el ácido retinoico (4).

La glicoproteína-P presenta dos porciones homólogas, cada una formada por seis dominios transmembrana y un dominio intracelular de unión al ATP, separadas entre sí por un polipéptido flexible. La proteína presenta un segmento glicosilado hacia el exterior celular. Los extremos carboxilo y amino terminal se encuentra en el citoplasma. La interacción de las dos porciones homólogas es necesaria para acoplar la actividad ATPasa al transporte. A través de mutaciones genéticas y de unión de sustratos análogos de P-gp por fotoafinidad, se ha determinado que los dominios transmembranales 5, 6 y 11, 12 y los dominios extracelulares que conectan a los anteriores son los sitios de mayor interacción con drogas. En cuanto a la estequiometría de la reacción, que depende del sustrato se necesitan 0,6-3 moléculas de ATP por molécula de sustrato que va a transportar (6).

Una hipótesis sugiere que la glicoproteína-P transporta el sustrato por extrusión, directamente desde la membrana citoplasmática sin que el mismo haya entrado en contacto con el citoplasma. Otro de los mecanismos propuestos considera la formación de un poro o canal hidrofóbico entre el espacio intra y extracelular, por el cual los sustratos que ingresan al interior citoplasmático podrían ser extruidos (7).

La falta de uno o ambos genes *mdr1a* y *mdr1b* no implica falta de viabilidad o fecundidad ni riesgo de vida para el roedor. Sin embargo, el gen *mdr2* es esencial para el transporte de fosfatidilcolina desde el hepatocito hacia la bilis; en su ausencia, el animal produce inadecuadamente las micelas biliares que lo lleva a una cirrosis hepática.

Especificidad de los sustratos de la Glicoproteína-P

Los sustratos de la glicoproteína-P forman un grupo heterogéneo de sustancias hidrofóbicas, anfipáticas e hidrofílicas dentro de las cuales se encuentran las drogas oncológicas, los inhibidores de proteasas HIV, los antagonistas cálcicos, los inmunosupresores y los antibióticos (Tabla 2).

Tabla 2. Sustratos, inhibidores e inductores de la glicoproteína-P

SUSTRATOS	INDUCTORES	INHIBIDORES
Actinomicina D	S.J.W	1ª Generación
Amiripidina	Amiodarona	Amiodarona
Carbamacepina	Bromocriptina	Astemizol
Ciclosporina	Cisplatino	Atorvastatina
Cimetidina	Daunorubicina	Bepiridil
Ciprofloxacina	Clotrimazol	Ciclosporina
Cisplatino	Colchicina	Clorpromazina
Colchicina	Ciclosporina	Claritromicina
Daunorubicina	Diltiazem	Cortisol
Dexametasona	Dexametasona	Eritromicina
Digoxina	Doxorubicina	Diltiazem
Diltiazem	Eritromicina	Felodipina
Doxorubicina	Etopósido	Ketoconazol
Eritromicina	Fluorouracilo	Midazolam
Estradiol	Insulina	Nicardipina
Etopósido	Metorexate	Nitrendipina
Fenitoína	Verapamilo	Progesterona
Indinavir	Midazolam	Quinidina
Itraconazol	Morfina	Quina
Ivermectina	Nicardipina	Ritonavir
L-Dopa	Nifedipina	Tacrolimus
Levosoprazol	Fenobarbital	Tamoxifeno
Loperamida	Fenotiazina	Terfenadina
Losartán	Fenitoína	Valinomicina
Lovastatina	Probenecid	Verapamilo
Melotrexate	Reserpina	Vinblastina
Morfina	Rifampicina	Itraconazol
Ondansetron	Tacrolimus	Reserpina
Pacitaxel	Tamoxifen	
Rodamina	Vincristina	2ª Generación
Tamoxifeno	Vinblastina	GF120918
Quinidina	Yohimbina	LY335979
Rifampicina		MS-073
Terfenadina		OC144-093
Ritonavir		PSC 833- (VALSPODAR)
Prednisolone		R101933
Saquinavir		S9768
Talinolol		VX-710 -(BIRICODAR)
Tacrolimus		XR9051
Verapamilo		
Vincristina		

Algunos autores proponen que los sustratos son moléculas de alto peso molecular (> 300 Da), lipofílicas, con carga positiva a pH fisiológico y contienen grupos donantes de electrones como átomos de O, N, S, F, Cl o grupos con orbitales π de un sistema insaturado (8). De acuerdo con la separación espacial de los grupos donantes de electrones en la molécula, el número de sitios de reconocimiento, la afinidad por el sustrato aumenta con el número de sitios presentes.

Otros autores afirman que el común denominador de los sustratos de la P-gp es la naturaleza hidrofóbica. Esto sugiere que la partición en la membrana lipídica celular es el primer paso para lograr la interacción entre el sustrato y el sitio activo de la P-gp. Así, el número de puentes de hidrógeno y la hidrofobicidad de la molécula determinan la afinidad del transportador por el compuesto (6).

La mayoría de los agentes inhibidores de P-gp bloquean el transporte de los sustratos en forma competitiva o no competitiva. Por ejemplo, el verapamil es un inhibidor que compite por el transporte mediado por P-gp sin interrumpir la actividad catalítica del transportador (sustrato alternativo). Otros agentes pueden inhibir el transporte interfiriendo con el sistema de reconocimiento del sustrato y en la hidrólisis del ATP.

El verapamil es utilizado, en particular, como un inhibidor de P-gp principalmente en la fase pre-clínica experimental. En estudios clínicos se ha demostrado la toxicidad dependiente de la dosis administrada de verapamil por el registro de hipotensión y bradicardia. Por lo tanto, si bien el verapamil es una droga útil para develar mecanismos de acción e interacciones farmacológicas que involucren la P-gp, en la práctica clínica es una droga que produce una serie de efectos adversos que limitan su uso. El índice bajo de selectividad de la ciclosporina y el verapamil requiere que para lograr una inhibición de la P-gp clínicamente significativa, se deban administrar dosis altas que resulta en múltiples efectos adversos. El derivado de ciclosporina PSC833 presenta un índice alto de selectividad, mayor que el del compuesto madre.

En el estudio experimental de drogas sujetas a la acción de la P-gp, pueden aplicarse una diversidad de metodologías in vivo e in vitro. Las metodologías in vivo utilizan los ratones

modificados genéticamente para los genes *mdr* 1 denominados *mdr* 1 a (-/-), *mdr* 1b (-/-) y *mdr* 1 a/b (-/-) (9).

La utilización del saco intestinal de rata aislado fue descrita por primera vez en el año 1954 como modelo para el estudio de absorción de azúcares y aminoácidos. En la actualidad esta preparación resulta muy útil para evaluar la actividad de la P-gp en presencia de diferentes tratamientos con inductores o inhibidores.

Dentro de las técnicas in vitro se emplea el cultivo celular de Caco-2 (10). Esta línea celular proviene de carcinoma de colon humano. Los enterocitos de colon humano presentan la expresión más elevada de P-gp del intestino y, teniendo en cuenta que son células cancerígenas, la expresión del transportador en la línea celular es muy elevada. No obstante, carecen de CYP3A.

Otras líneas celulares utilizadas son las correspondientes a las células MDCK derivadas de riñón canino y las LLC-PK1 derivadas de riñón porcino que pueden ser transfectadas con cDNA correspondiente a MDR1 (11), las CR1R12 derivadas de tumor de ovario de hamster chino (12) y las LLC GA5 COL150 transfectadas con MDR1 o *mdr*1a (13).

Es habitual utilizar las líneas celulares para evaluar el transporte transepitelial de sustratos de la P-gp (como la Rodamina 123) en dirección basolateral-apical y apical-basolateral, y se establecen diferencias ante la presencia de inhibidores o inductores (10).

Se ha establecido el transporte de eflujo para omeprazol, lansoprazol y pantoprazol en cultivos de LLC-PK1 y Caco 2. La inhibición con el agente PSC-833 fue completa solo para lansoprazol en el sistema Caco 2 por lo que se sospecha que pantoprazol y omeprazol podrían ser extruidos por la acción conjunta de otros transportadores de eflujo (11).

En cultivos celulares de CR1R12 se utilizó daunorubicina como sustrato y vanadato como agente de máxima inhibición, y se estableció el grado de inhibición de la actividad del transportador para diferentes compuestos. De esta manera se obtuvo una potencia relativa a vanadato de 75 a 60 %, para ciclosporina A y progesterona, 40 a 50 % para verapamil y terfenadina, y un 30 a 40 % para vinblastina, quindina, tamoxifeno y nicardipina.

Espe
Co
tam
món
la c
liculo
cal d
proxi
cereb
de los
rios,
glánd
hema
La
bran
deter
realiz
hum
super
ya q
cia e
las c
gp ve
hom
estón
gp e
entre
De
male
prop
prin
prot
an d
prot
bién
gas.
La
absc
por
don
cipa
sang
enté
acci
pro
da d
con
sujé
frac
ciót
de i
trat

Expresión y función en tejidos

Como se ha expuesto, la P-gp se expresa tanto en tejidos tumorales como en tejidos normales de ratas, ratones, hámsters y humanos. Se ha encontrado en células epiteliales de los canales biliares (colangiocitos), la superficie apical de las células epiteliales del túbulo renal proximal, las células endoteliales de capilares cerebrales y de testículos, la membrana apical de los enterocitos, la glándula adrenal, los ovarios, los pulmones, el corazón, las células de glándulas salivares, la placenta y las células hematopoyéticas (3, 14, 16, 17).

La presencia de la glicoproteína-P en la membrana apical de los enterocitos maduros se ha determinado por estudios inmunohistológicos realizados en segmentos de intestino delgado humano. La distribución de la proteína en la superficie del epitelio intestinal no es uniforme, ya que el transportador se ubica con preferencia en las vellosidades intestinales respecto de las criptas (6, 14). Incluso, el contenido de la P-gp varía a lo largo del tracto gastrointestinal del hombre, y aumenta progresivamente desde el estómago hacia el colon (18). Los niveles de P-gp en el intestino delgado varían ampliamente entre individuos.

De acuerdo con estudios realizados en animales, en cultivos celulares y en humanos, se ha propuesto que el citocromo P450 3A (CYP3A), principal enzima metabólica, junto con la glicoproteína-P, en los enterocitos intestinales, actúan de manera coordinada como mecanismos de protección contra sustancias tóxicas, pero también, limitando la biodisponibilidad de las drogas.

Luego de la administración oral, la droga se absorbe en el lumen intestinal principalmente por difusión pasiva al interior del enterocito, donde puede ser atacada por las enzimas (principalmente CYP3A4), alcanzar la circulación sanguínea o bien, ser extruída del interior del enterocito nuevamente hacia el lumen por acción de los transportadores de eflujo (glicoproteína-P). La fracción de droga que es extruída del enterocito y la que no fue absorbida aún, continúan avanzando por el lumen intestinal sujetas a los mecanismos descriptos. Por ello, la fracción neta de droga que alcanza la circulación sistémica y puede ser biodisponible depende de la acción de las enzimas intestinales y el transportador de eflujo P-gp (20).

Existe una superposición llamativa entre los sustratos de la P-gp y del CYP3A4. Además, muchos compuestos inhibidores de P-gp son inhibidores asimismo, del CYP450. La inhibición conjunta de ambos sistemas puede llevar al aumento de la absorción neta de droga, o bien disminuir su eliminación y disminuir el metabolismo de la droga; es decir, incrementar la concentración de droga en los distintos tejidos lo cual puede resultar en efectos tóxicos (19).

Considerando la ubicación de la P-gp en el epitelio intestinal normal en el hombre y de ciertas especies animales, se supone que la proteína modula la absorción de drogas (20). Por otro lado, el transportador podría mediar la secreción intestinal de los sustratos que han alcanzado la circulación sistémica. El efecto de la P-gp en la excreción intestinal ha sido comprobado experimentalmente para el paclitaxel y la digoxina utilizando ratones *mdr1a* (-/-). Sin embargo, cabe destacar que los resultados obtenidos en animales deben ser considerados con cautela si se desea extrapolar a la situación en humanos.

La presencia de glicoproteína-P en el intestino puede explicar, en parte, la gran variabilidad interindividual observada en la biodisponibilidad de algunas drogas administradas por vía oral (21). La ciclosporina es el principal inmunosupresor utilizado en los trasplantes de órganos sólidos. Su uso para suprimir la reyección del trasplante presenta ciertas complicaciones debido a su estrecha ventana terapéutica y a la gran variabilidad interpacientes que se observa en la farmacocinética de la droga administrada por vía oral. En los últimos años se ha detectado que la variación de CYP3A4 en el contenido hepático de los pacientes -enzima responsable del metabolismo de la ciclosporina- es la principal causa de la variación en el clearance de la droga administrada por vía endovenosa. Se ha demostrado que tanto el contenido intestinal de CYP3A4 como la expresión de P-gp son factores importantes y determinantes de la biodisponibilidad de la ciclosporina administrada por vía oral. La variabilidad interindividual en el contenido de P-gp intestinal se relaciona con las variaciones en las concentraciones plasmáticas alcanzadas del inmunosupresor (22).

En un estudio clínico la biodisponibilidad del paclitaxel administrado por vía oral aumentó

por la administración conjunta con ciclosporina. Resultados similares se obtuvieron para docetaxel en pacientes oncológicos. La ciclosporina es un potente inhibidor de P-gp; por lo tanto, los resultados sugieren la inhibición intestinal del transportador como barrera a la absorción de los productos oncológicos.

Actualmente se estudia el desarrollo de interacciones entre las drogas que estimulen la actividad de la P-gp y los sustratos del transportador, ya que las primeras llevarán a una disminución de la absorción neta del segundo grupo de drogas. Este tipo de interacción cobra fundamental importancia en la clínica terapéutica al utilizar drogas de estrecho margen terapéutico (6).

Greiner B. y col., (1999) observaron una correlación entre el contenido intestinal de la P-gp y la disminución en el área bajo la curva del perfil plasmático (ABC) de digoxina, frente a la co-administración por vía oral con rifampicina, reconocido inductor de la expresión del transportador (23). Los autores observaron un incremento en el contenido de P-gp intestinal inducido por el tratamiento con rifampicina (600 mg/día, 10 días). Así, el aumento en el contenido intestinal del transportador provocó una disminución de la cantidad de digoxina absorbida por ser un sustrato de la P-gp y, en consecuencia, disminuyeron las concentraciones plasmáticas de digoxina y el ABC. Considerando que el ABC es un parámetro estrechamente relacionado con la cantidad de droga absorbida, la disminución en el ABC refleja la disminución en la fracción de droga administrada que es absorbida y queda biodisponible en el organismo.

Otro ejemplo es la interacción registrada después de la administración conjunta de verapamil y talinol; se detectó un aumento en los valores del pico de concentración plasmática (C_{max}) y del ABC de talinol en presencia del inhibidor. El talinol es una droga modelo que se caracteriza por presentar una baja permeabilidad intestinal limitada por mecanismos de secreción, bajo metabolismo hepático (< 1%) y de porcentaje muy alto de eliminación renal como droga inalterada respecto de la dosis administrada en humanos. Por ello, la interacción observada entre el verapamil y el talinol podría estar relacionada con la inhibición de la secreción intestinal mediada por P-gp por el verapamil lo que llevaría al aumento neto de la fracción de talinol absorbido. Por el contrario,

se observó una disminución en la biodisponibilidad de talinol al coadministrar la droga con rifampicina en voluntarios sanos (600 mg/día, p.o, 9 días) y se evidenció un aumento en el contenido duodenal de la P-gp.

Es indudable la necesidad de contar con fármacos inhibidores selectivos de la P-gp, lo que permitiría aumentar la biodisponibilidad de las drogas que son sustratos del transportador y disminuir la variabilidad cinética. Sin embargo, se debe considerar la toxicidad que puede resultar de los valores aumentados de la droga en plasma como también los efectos de la inhibición del transportador en sitios distintos del intestinal (24).

El tacrolimo es un inmunosupresor muy utilizado en la terapéutica del trasplante hepático. La droga sufre metabolismo presistémico vía el CYP3A y es un sustrato de la P-gp. Nuevamente, la acción conjunta de ambos sistemas limita la biodisponibilidad de la droga y contribuyen a la variabilidad interindividual de la farmacocinética de la droga.

Los sustratos pueden ser tan diversos como los compuestos contenidos en el jugo de pomelo. Se observaron diversas interacciones en la coadministración de jugo de pomelo y fármacos como imidnavir. Los resultados son contradictorios y algunos autores proponen que el cotratamiento con el jugo inhibe, mientras la administración crónica aumenta los niveles intestinales de P-gp (25). Por el contrario, otros autores proponen que la acción del jugo de pomelo no altera la expresión intestinal de P-gp y que inhiben un transporte distinto al mediado por la P-gp (26).

Si bien los estudios clínicos presentados previamente sugieren la participación de la P-gp en la farmacocinética de diversas drogas, no en todos los casos la P-gp limitará la absorción intestinal de los sustratos. Se debe tener en cuenta principalmente que la dosis oral de droga administrada lleva a que su concentración en el lumen intestinal sea mayor al Km del transportador para este sustrato, y sature el fenómeno de transporte de manera que el papel de la P-gp en la absorción intestinal sea menos significativo.

Como se discutió, los hepatocitos contienen un gran número de proteínas que median el transporte de distintas sustancias desde el vaso sanguíneo hacia el interior del hepatocito y hacia el canalículo biliar, incluida la glicoprote-

ina-P. Esta se encuentra localizada en la membrana canalicular del hepatocito y en la membrana apical de los colangiocitos, y participa en el pasaje de distintas sustancias hacia la bilis.

La doxorubicina es un quimioterápico de alta metabolización hepática y de importante secreción biliar. Tanto en el hígado aislado y perfundido de rata, como en ratones *mdr1a* (-/-) o mutantes del gen que codifica para *mdr1a*, se ha notado la disminución de la excreción biliar de doxorubicina y de su metabolito al coadministrar la droga con un inhibidor específico del transportador. Los resultados descriptos dejan al descubierto la importancia del normal funcionamiento del transportador en la eliminación de una droga sustrato del transportador. Por el contrario, la inducción de la P-gp en el hígado puede aumentar el clearance biliar, lo que llevaría al aumento de la velocidad de eliminación de la droga del organismo (7).

La presencia de glicoproteína-P en la membrana apical de las células epiteliales del túbulo contorneado proximal renal permite suponer la participación del transportador en la secreción de sustancias desde la sangre hacia la orina, impidiendo la reabsorción de los compuestos filtrados en el glomérulo. Un ejemplo de relevancia clínica es el caso de la digoxina, cuyo principal mecanismo de eliminación es la vía renal. La coadministración de digoxina con un inhibidor de P-gp como quinidina o ciclosporina A, disminuye la secreción de la droga y el clearance renal lo que produce un aumento de las concentraciones plasmáticas (23, 27). La claritromicina inhibe la secreción tubular renal de digoxina mediada por P-gp, de manera que puede presentarse una interacción en la administración conjunta de ambas drogas.

La glicoproteína-P también se ha hallado en diferentes tipos de leucocitos y en células pluripotenciales sanguíneas en humanos. La expresión es mayor en la subpoblación CD4+ (el mayor blanco para el HIV) y en los CD8+ (7, 28).

Si bien la función del transportador en esas células es desconocida, se postula su participación en la secreción de citoquinas, protección contra la acumulación intracelular de compuestos tóxicos y citotoxicidad mediada por células (7). La modulación de la P-gp puede alterar la eficacia y la toxicidad observada en la terapéutica con inmunosupresores, oncológicos y anti-HIV. La coadministración de inhibidores de P-gp con agentes compuestos oncológicos, requirió la

disminución de la dosis administrada por toxicidad hematológica. Esta toxicidad se debió, en parte, al aumento de exposición al agente quimioterápico a nivel sistémico pero también podría deberse a la inhibición de la P-gp en las células madre de la médula ósea y leucocitos maduros que resulta en un aumento de la concentración intracelular de los agentes quimioterápicos (7).

En contraposición, la inducción de la expresión de la P-gp en progenitores hematopoyéticos, podría proteger a los pacientes oncológicos de mielosupresión.

Diversos estudios clínicos fase I y II se están desarrollando actualmente para evaluar la coadministración de PSC833 en el tratamiento oncológico de la leucemia para determinar la eficacia terapéutica de la administración conjunta, la dosis que se debe emplear y evaluar los parámetros de seguridad. Asimismo, existen estudios clínicos para la evaluación de otros inhibidores de P-gp en el tratamiento de tumores sólidos (29).

Una expresión aumentada de P-gp y MRP1 en linfocitos se asocia con una acumulación intracelular menor para saquinovir y ritonavir (28). De hecho, se ha propuesto que la expresión de P-gp en linfocitos es uno de los mecanismos de resistencia a los agentes antiretrovirales utilizados en el tratamiento del HIV.

A diferencia de otras regiones del cuerpo, las células endoteliales vasculares del sistema nervioso central presentan uniones estrechas, con bajo transporte paracelular, actividad de pinocitosis reducida y presencia de transportadores para la captación de nutrientes y la extrusión de numerosos compuestos. La penetración de xenobióticos a través de la barrera hematoencefálica se correlaciona directamente con la lipofilicidad de la sustancia, la afinidad por los transportadores e, inversamente, con el peso molecular, el grado de ionización, la unión a proteínas y el número de ligaduras de hidrógeno y agua que presenta el compuesto (7).

Las drogas altamente lipofílicas alcanzan concentraciones elevadas en el sistema nervioso central empleando la difusión pasiva a través de las membranas celulares. En general, existe una buena correlación entre el coeficiente de partición octanol-agua (como indicador del grado de lipofilicidad) y la permeabilidad de drogas a través de la barrera hematoencefálica.

Sin embargo, una gran cantidad de compuestos (entre ellos, la ciclosporina A, la vincristina y el etopósido) tienen una pobre permeabilidad a través de la barrera, mucho menor a la esperada si solo se considera su lipofiliidad. La explicación a este fenómeno es la presencia de transportadores de drogas como la P-gp en la membrana luminal de las células endoteliales de los capilares cerebrales, que limitan el acceso de drogas hacia el sistema nervioso central (28).

La loperamida, la ivermectina, la vinblastina y la domperidona alcanzan débilmente el sistema nervioso central; además, son sustratos de la P-gp (9). La localización de la P-gp muestra un patrón de distribución que permite relacionar la distribución proteica con la protección de las estructuras centrales, impidiendo la penetración o aumentando la excreción de compuestos que son sustratos del transportador (30). La presencia de la glicoproteína-P se ha manifestado en células endoteliales de microvasos cerebrales, en el plexo coroideo y en los procesos de los astrocitos.

En los plexos coroideos, los capilares tienen células endoteliales con uniones fenestradas. La barrera aparece en las células epiteliales de los plexos, donde la unión es estrecha. Allí se hace presente la MRP1 ubicada en la membrana basolateral adyacente a los capilares. Otros transportadores aniónicos (OAT1) que en algunos casos son de naturaleza peptídica (OATP1) se ubican en la membrana apical de esas células, lindando con el líquido cefalorraquídeo, y otros que acompañan al MRP1 en la membrana basolateral (OATP2). De esta manera, se establece el flujo activo de sustratos desde el líquido cefalorraquídeo hacia la circulación sistémica.

Estos procesos de flujo serían los encargados de mantener los niveles de drogas en el sistema nervioso central por debajo de la cantidad de droga libre en la circulación sistémica (31).

En el tratamiento oncológico y de enfermedades que comprometen el sistema nervioso central como la barrera hematoencefálica impide el libre acceso de drogas, se desarrollaron

una serie de procedimientos para su *disrupción*. Uno de ellos consiste en la inyección de una solución hiperosmolar de manitol seguido del agente quimioterápico que se inyecta por vía intraarterial. Esta transferencia facilitada se empleó para el tratamiento de tumores cerebrales con metotrexate, ciclofosfamida y procarbazona. Algunos procedimientos consisten en la inyección de sustancias vasoactivas que aumentan la permeabilidad de las uniones estrechas o la inyección directa del agente por vía intraventricular. Otra posibilidad es la modificación de la estructura química de las drogas, sintetizando compuestos más lipofílicos o combinando la molécula con proteínas o anticuerpos monoclonales que interactúan con receptores específicos de las membranas. La doxorubicina penetra muy escasamente en el sistema nervioso central por ser sustrato de la P-gp ubicada en la barrera hematoencefálica. La unión de la droga a un vector peptídico permitió su mayor captación (32).

La inhibición de la PgP empleada como herramienta para elevar las concentraciones de drogas a nivel del sistema nervioso central y como consecuencia, aumentar los efectos centrales de las drogas, fue evaluado en un estudio clínico que empleó el opioide periférico loperamida, sustrato de la PgP (28). Los voluntarios sanos recibieron una dosis única de loperamida con o sin quinidina como inhibidor de la PgP. De acuerdo con la hipótesis inicial, los efectos centrales de la loperamida (cambios en la respuesta ventilatoria al incremento de concentraciones de dióxido de carbono) se observaron solo durante la co-administración del inhibidor de la PgP.

Diversos estudios que emplearon ratones *mdr1a* (-/-) demuestran que la administración de ivermectina, digoxina, doxorubicina, paclitaxel y vincristina en estos animales resulta en niveles centrales superiores, comparados con ratones wild type o bien cepas que no tienen modificaciones genéticas (7).

El agonista δ -opioide d-penicilamina encefalina -DPDPE- fue desarrollado como droga para el tratamiento del dolor (2, 5). Por medio

de estudios experimentales se comprobó que la administración de la droga a ratones *méla (-/-)* o la coadministración de un inhibidor de la P-gp en ratones normales, conduce a mayores concentraciones de DZDPE en el tejido cerebral y a respuestas farmacodinámicas superiores (7).

En el grupo de experimentos que empleó morfina en administración conjunta con GF120918, potente inhibidor de P-gp, se observó el incremento en el área bajo la curva de efecto en función del tiempo en el ensayo del *tail flick* respecto del grupo de animales control (8).

Distintos autores proponen que la administración a largo plazo de opiáceos podría aumentar la expresión de la P-gp en el sistema nervioso central. Así, el tratamiento con morfina resultó en una reducción de la expresión de la P-gp en la rata y, por lo tanto, una antinociación cuatro veces inferior respecto del grupo de animales control (9).

Considerando la presencia de la P-gp en el sistema nervioso central y su influencia en la disposición de drogas se cuestiona si la elevación de los niveles cerebrales de la P-gp contribuye a la aparición del fenómeno de tolerancia a la analgesia asociada a morfina luego de la administración crónica (7).

Existen evidencias de la expresión aumentada de la P-gp y los miembros de la familia de proteínas MRP en las células endoteliales de los capilares y en los astrocitos del tejido cerebral epileptogénico removido quirúrgicamente de pacientes con epilepsia intractable médicamente. Esto podría ser la causa de la epilepsia refractoria, donde la mayoría de los pacientes con esta enfermedad son resistentes a casi, o a todos los medicamentos antiepilépticos.

Algunas drogas anticonvulsivantes sustratos de la P-gp son el gabapentín, el topiramato, la fenitoína, la carbamazepina, el fenobarbital, el felbamato y la lamotrigina, mientras que el ácido valproico, la fenoflona y la carbamazepina son transportados por la MRP (9).

Si bien se observa una evolución importante en la terapéutica antiviral para el tratamiento de la infección mediada por el virus HIV-1,

existen diversos problemas, como el efecto del virus en el sistema nervioso central y la pérdida progresiva de las habilidades cognitivas del enfermo. Esto puede suceder que no se alcancen niveles terapéuticos efectivos del fármaco. Una situación similar ocurre en los testículos, lo cual constituye la transmisión sexual de la enfermedad. Una característica común entre ambos parámetros es la presencia de la glicoproteína P en la luz hacia el lumen de los capilares endoteliales en los tejidos. Los fármacos inhibidores de proteasas utilizados en el tratamiento del HIV son sustratos de la P-gp. Existen estudios que evidencian el aumento en la distribución de inhibidores de proteasas como nelfinavir, zidovudina y saquinavir en los testículos de ratones frente a la inhibición de la P-gp. Sin embargo, cabe destacar que para que estos resultados preclínicos adquieran relevancia clínica, es necesario trabajar con inhibidores potentes y selectivos del tejido en el cual se quiere bloquear la actividad de la P-gp. De lo contrario, la inhibición indiscriminada de la P-gp puede llevar a aumentos en las concentraciones de droga en sitios donde se producen efectos tóxicos.

Conclusión

El estudio de la participación de la glicoproteína-P en la absorción y disposición de drogas está en continuo desarrollo. Según los estudios realizados *in vitro* o *in vivo* se propone que el transporte mediado por la P-gp modifica la absorción, la distribución, el metabolismo y la eliminación de un gran número de fármacos. Por ello, afecta el régimen de dosificación de las drogas para alcanzar concentraciones terapéuticas pero no tóxicas principalmente para aquellos fármacos que presentan una estrecha ventana terapéutica. Asimismo, es importante el estudio de las interacciones entre drogas que sean sustratos, inhibidores e inductores de la glicoproteína-P considerando la influencia del transportador en la farmacocinética de múltiples drogas y en consecuencia, en el tratamiento de diversas enfermedades. ■

Referencias bibliográficas

- 1- Juliano J. R., Ling V. (1976) A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta* 455:152-162.
- 2- Anandkar S., Dey S., Hynes C.A., Ramachandra M., Pastan I. and Gottesman M. M. (1999) Biochemical, cellular and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 39:361-398.
- 3- Group J., Raymond M., Haber D., Devault A., Arcedi R.J., Gros P. and Housnan D.F. (1989) The three multidrug resistance (mdr) genes are expressed in a tissue-dependent manner in normal mouse tissues. *Mol. Cell Biol.* 9:1346-1350.
- 4- Gottesman M. and Pastan I. (1995) Biochemistry of multidrug resistance mediated by multidrug transporter. *Annu. Rev. Biochem.* 62:385-427.
- 5- Higgins C. (1992) ABC transporters: from microorganism to man. *Annu. Rev. Cell Biol.* 8: 67-113.
- 6- Liu J.H. and Yamazaki M. (2003) Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics. *Clin. Pharmacokinet.* 42:59-98.
- 7- Marlely C. J., Lamb M. W., Brower K. L. and Pollack G. M. (2001) Pharmacokinetic and pharmacodynamic implications of P-glycoprotein modulation. *Pharmotherapy* 21: 778-796.
- 8- Seelig A. (1998) How does P-glycoprotein recognize its substrates? *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 36 (1):50-54.
- 9- Löscher W. and Potschka H. (2002). Role of multidrug transporters in pharmacoresistance to antiepileptic drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 301: 7-14.
- 10- Yomoto R., Murakami T., Nakamoto Y., Hasegawa R., Nagai J. and Tacano M. (1999) Transport of Rhodamine 123, a P-glycoprotein substrate, across rat intestine and Caco-2 cell monolayers in the presence of cytochrome P-450 3A-related compounds. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 289:149-155.
- 11- Pauli-Magnus C., Rekersbrink S., Klotz U. and Frumm M. F. (2001) Interaction of omeprazole, lansoprazole, and pantoprazole with P-glycoprotein. *Naturwissenschaften* Arch. Pharmacol. 364: 551-557.
- 12- Wang E., Gasiano C.N., Clement R. P. and Johnson W. W. (2000) In vitro flow cytometry method to quantitatively assess inhibitors of P-glycoprotein. *Drug Metab. Dispos.* 28: 522-528.
- 13- Wakasugi H., Yano I., Ito T., Hashida T., Furami T., Nishita R., Sasayama S. and Inui K. (1998) Effect of clarithromycin on renal excretion of digoxin: interaction with P-glycoprotein. *Clin. Pharmacol. Ther.* 64(1): 123-128
- 14- Thibault F., Tsuruo T., Shaniada H., Gottesman M., Pastan I. and M. Willingham. (1987) Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 7735-7738.
- 15- Schinkel A., Wagenaar E., Mol C. and Van Deemter J. (1996) P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs. *J. Clin. Invest.* 97 (11): 2517-2524.
- 16- Van Asperin J., Van Toljargt O. and Beijnen J. (2000) The role of mdrl (P-glycoprotein) in the biliary and intestinal secretion of doxorubicin and vinblastine in mice. *Drug Metab. Dispos.* 28:264-267.
- 17- Kusuhara H., Suzuki H. and Sugiyama Y. (1998) The role of P-Glycoprotein and canalicular multispecific organic anion transporter in the hepatobiliary excretion of drugs. *J. Pharm. Sci.* 87 (9): 1025-1040.
- 18- Frycker G., Dravo J., Hawtley J., Gutmann H. and Beglinger C. (1996) Relevance of p-glycoprotein for the oral absorption of cyclosporin A: in vitro-in vivo correlation.

- Br. J. Pharmacol. 118:1841-1847.
- 19- Waudel C., Kim R.B., Kajiji S., Guengerich P., Wilkinson G. R. and Wood A. J. (1999) P-glycoprotein and cytochrome P-450 3A inhibition: dissociation of inhibitory potencies. *Cancer Res.* 59: 3944-3948.
 - 20- Wachter V. J., Salphati L. and Benet L. Z. (2001) Active secretion and enterocytic drug metabolism barriers to drug absorption. *Adv. Drug Del. Rev.* 46:89-102
 - 21- Schellens J, Mahngre M. M, Kmitzer C. M., Barduniar H. A., van Tolingen O., Schinkel A. H. and Beijnen J. H. (2000) Modulation of oral bioavailability of anti cancer drugs: from mouse to man. *Eur. J. Pharm. Sci.* 12:105-110.
 - 22- Lowe K., Mayo R., Leichman A. B., Hsiao L. L., Torgson D. K. (1997) Role of intestinal P-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 62 (3): 248-260.
 - 23- Greiner B., Eichebaum M., Fritz P., Kreeghauer H. P., von Richter O., Zundler J. and Krocmer H. K. (1999) The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampin. *J. Clin. Invest.* 104 (2): 147-153.
 - 24- Siddh. W., Fisher G., Lum B., Halsey J., Beketic-Reskovic L. and Chen G. (1997) Modulation and prevention of multidrug resistance by inhibitors of P-glycoprotein. *Cancer Chamber. Pharmacol* 40: 513-519.
 - 25- Panchagula R., Bansal T., Varma M. and Kaul C. (2005) Co-treatment with grapefruit juice inhibits while chronic administration activates mdr1-mediated P-glycoprotein-mediated drug efflux. *Pharmazie.* 2005 60:922-927.
 - 26- Schwarz U., Seeman D., Oertel R., Michike S., Kuhlisch E., Fromm M., Kim R. B., Bailey D. G. and Kirch W. (2005) Grapefruit juice ingestion significantly reduces talinolol bioavailability. *Clin Pharmacol. Ther.* 77:291-301.
 - 27- Fromm M., Kim R., Steu M., Wilkinson G. and Roden D. (1998) Inhibition of P-glycoprotein-mediated drug transport: A unifying mechanism to explain the interaction between digoxin and quinidine. *Circulation* 99: 552-557.
 - 28- Fromm M. F. (2004) Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers. *Trends Pharmacol. Sci.* 25 (8): 423-429.
 - 29- Maue J. P. (2001) Drug resistance in hematologic malignancies. *Curr. Opin. Oncol.* 2001; 13:463-469.
 - 30- Fromm M.F., Eckhardt K., Li S., Schanzle G., Hofmann U., Mikus G. and Eichebaum M. (1997) Loss of analgesic effect of morphine due to coadministration of rifampin. *Pain* 72:261-267.
 - 31- Kusuhara H. and Sugiyama Y. (2001) Efflux transport systems for drugs at the blood-brain barrier and blood cerebrospinal fluid barrier. *Drug Discov. Today* 6:206-212.
 - 32- Temsamani J., Schumann J. M., Rees A. R. and Kaskorek M. (2000). Brain drug delivery technologies: novel approaches for transporting therapeutics. *Pharm. Sci. Technol. Today* 3: 155-162.
 - 33- Letrent S. P., Pollock G. M., Brower K. K. and Brower K. L. (1998) Effect of GF120918, a potent P-glycoprotein inhibitor, on morphine pharmacokinetics and pharmacodynamics in the rat. *Pharm. Res.* 15: 599-605.