

Metalofármacos vs cáncer (Parte I)

CAMACHO, J.;^{1,*} FERRER, R.;² MALDONADO, A.;³ NAVARRO M.³

Resumen

El cáncer es una enfermedad caracterizada por la proliferación excesiva y descontrolada de células anormales. Existen varios tipos de cáncer, clasificados según el órgano o estructuras que lo originan. El cáncer causa la muerte de uno de cada cinco adultos en países desarrollados. En Venezuela es la segunda causa de mortalidad, tanto en hombres como en mujeres. Los tratamientos contra el cáncer incluyen la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia; esta última se basa en el tratamiento del cáncer mediante el uso de fármacos conocidos como agentes antineoplásicos. En este artículo, dividido en dos partes, se hará una revisión de los aspectos más importantes referentes a la quimioterapia antineoplásica basada en metalofármacos. Mencionaremos aspectos referentes a su mecanismo de acción, uso terapéutico y propiedades estructurales, entre otros. En la primera parte se hará una revisión con respecto a los compuestos de platino; y en la segunda parte se mencionaran fármacos en los cuales el metal presente es distinto al platino.

Palabras clave: Cáncer, metalofármacos, quimioterapia antineoplásica.

Metalsdrugs vs Cancer (Part I)

Abstract

Cancer is a group of disease characterized by the excessive proliferation and decontrolled growth of abnormal cells. There are different types of cancer, the classified depends on the organ or structure was it was generated. In developing countries one out of five adult people die of cancer. In Venezuela, cancer is the second cause of mortality, either in men or women. The treatments against cancer can include surgery, radiotherapy, and chemotherapy. The last one involves the use of drugs like antineoplastic agents. We make a review about the most important items of the antineoplastic metals-drugs chemotherapy, describing aspects like mechanism of action, therapeutic use, structures properties and other important characteristics. This article contents two parts, in the first one, we make a review about the platinum compounds; in the second part we analyze the metals-drugs where the metal its other than platinum.

Key Words: Cancer, Metals-drugs, chemotherapy antineoplastic.

¹ Laboratorio de Síntesis Orgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Apartado 40.109. Caracas 1040-A. Venezuela.

² Laboratorio de Síntesis Orgánica y Diseño Molecular. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.

³ Laboratorio de Química de los Metales de Transición. Centro de Química. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas-IVIC. Altos de Pipe. Venezuela.
e-mail: jrcamacho2000@yahoo.com

Introducción

El cáncer es una enfermedad caracterizada por la proliferación excesiva y descontrolada de células anormales. Esto ocasiona la formación de una masa de tejido constituido por células mutadas (tejido neoplásico), conocida como tumor. El proceso de desorganización progresiva observada a nivel molecular, celular y en tejidos se conoce como carcinogénesis.

Los tumores pueden ser benignos o malignos. En los benignos, las células que los constituyen no son cancerosas y no pueden expandirse hacia otros tejidos. Por otra parte, un tumor maligno está constituido por células cancerosas, capaces de migrar en el organismo (metástasis), lo cual puede originar la aparición de un nuevo tumor lejos del tumor primario.

Existen varios tipos de cáncer, clasificados según el órgano o estructuras que lo originan. Los carcinomas son los más frecuentes (> 80%), y provienen generalmente de tejidos epiteliales como la piel. La mayoría de los cánceres de colon, seno, próstata e hígado son carcinomas; los sarcomas provienen de tejidos de los músculos, vasos sanguíneos, nervios, huesos o cartílagos, siendo los menos frecuentes. Los adenocarcinomas se desarrollan en tejidos glandulares; entre ellos se encuentran las leucemias y los linfomas.

El cáncer causa la muerte de uno de cada cinco adultos en países desarrollados. En Venezuela es la segunda causa de mortalidad, tanto en hombres como en mujeres, después de las enfermedades cardiovasculares (MSDS. Anuario de epidemiología y estadística Vital, 2002).

Los tratamientos contra el cáncer incluyen la cirugía, la cual es viable siempre y cuando el cáncer no esté muy extendido y/o cuando no haya metástasis; la radioterapia, que se fundamenta en el hecho de que los tumores presentan sensibilidad hacia las radiaciones ionizantes; y la quimioterapia, que se basa en el tratamiento del cáncer mediante el uso de fármacos, conocidos como agentes antineoplásicos.

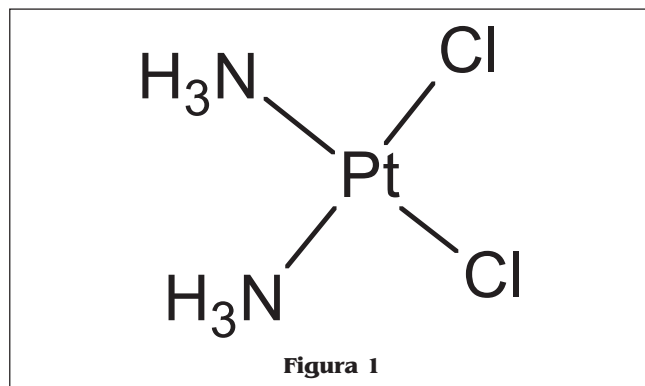
El propósito principal de esta revisión, realizada en dos partes, es informar sobre las nuevas tendencias en el diseño de fármacos antineoplásicos derivados de metales, los denominados metalofármacos. En esta primera entrega hablaremos sobre los compuestos derivados del platino y en la segunda entrega estudiaremos compuestos que contienen otros metales.

Platino y cáncer (Wong y col., 1999)

El interés en las drogas antitumorales derivadas del platino se origina en 1960 cuando Rosenberg descubre la inhibición de la división celular utilizando

complejos de Pt (Rosemberg y col., 1965), dando origen al cisplatino (cis-diamindicloroplatino (II)) (Figura 1), el cual es uno de los principales agentes antitumorales utilizados para el tratamiento del cáncer testicular y del cáncer de ovario.

De igual manera esta droga contribuye al tratamiento de otros tipos de tumores (Weiss y Christian, 1993); sin embargo, el cisplatino presenta problemas de toxicidad, limitando la dosis que se puede emplear para el tratamiento del cáncer.



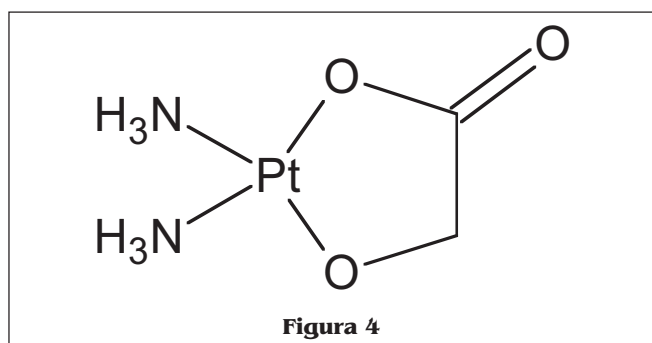
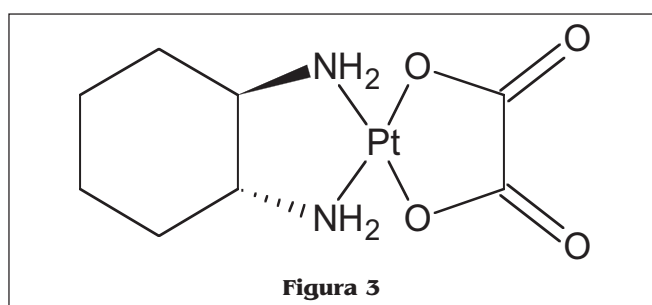
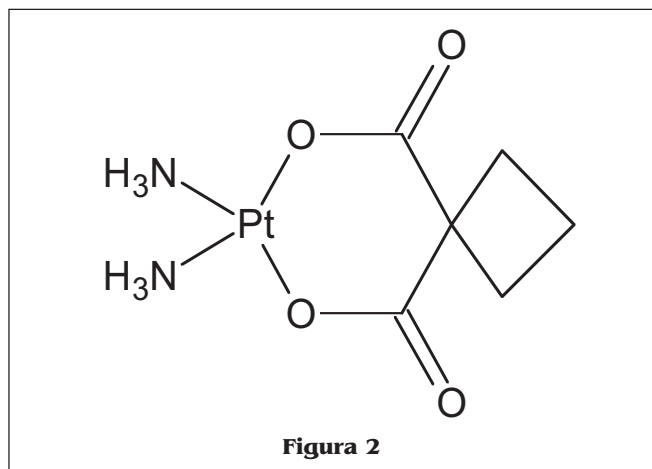
Para tratar de aliviar la toxicidad del cisplatino se emplea hidratación intravenosa. También se emplean dietilditiocarbamatos y tiosulfatos, sin embargo el mecanismo por el cual actúan estos compuestos es desconocido (Elferink y col., 1986; DeGregorio y col., 1989; Kusunoki y col., 2001).

Algunos tumores presentan resistencia natural al cisplatino, mientras que otros generan resistencia después del tratamiento inicial. Adicionalmente, el cisplatino presenta una solubilidad limitada en solución acuosa, lo cual es otro inconveniente.

Desde la introducción del cisplatino, cientos de compuestos de platino han sido sintetizados y evaluados como potenciales agentes antitumorales. Aproximadamente 28 de estos compuestos se han ensayado clínicamente. Entre los más importantes destacan:

- Diamine-(1,1-ciclobutandicarboxilato(2-))-O,O'-platino (II) (Carboplatino) (Figura 2) (Reedijk, 1996).
- (Trans-L-Diaminociclohexano)oxalatoplatino (II) (Oxaliplatino ó L-OHP) (Figura 3) (Lebwohl y Canetta, 1998).
- cis-diamino-glicolato-O,O'-platino (II) (Nedaplatino ó 254-S) (Figura 4) (Lebwohl y Canetta 1998).

De los cientos de compuestos de Pt sintetizados y evaluados como antitumorales, la mayoría de ellos se basan en la relación estructura-actividad realizada



por Cleare y Hoeschele en 1973 (Cleare y Hoeschele, 1973). En su trabajo, los autores proponen que un complejo de Pt (II) o (IV), presentará una actividad antitumoral si:

1. Presenta una geometría cis.
2. Posee una fórmula de $(PtX_2(Am)_2)$ o $(PtX_2Y_2(Am)_2)$.
3. X debe ser un buen grupo saliente.
4. Complejos con grupos salientes como ClO_4^- o NO_3^- son sumamente tóxicos, mientras que complejos con grupos salientes inertes son generalmente inactivos.
5. Am es una amina con, por lo menos, un enlace N-H.

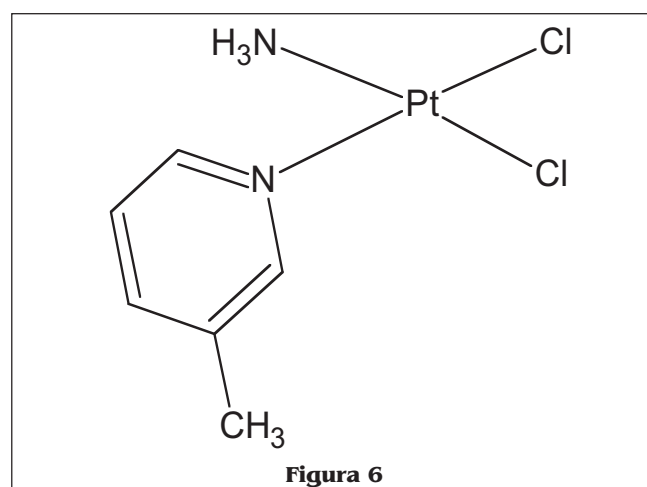
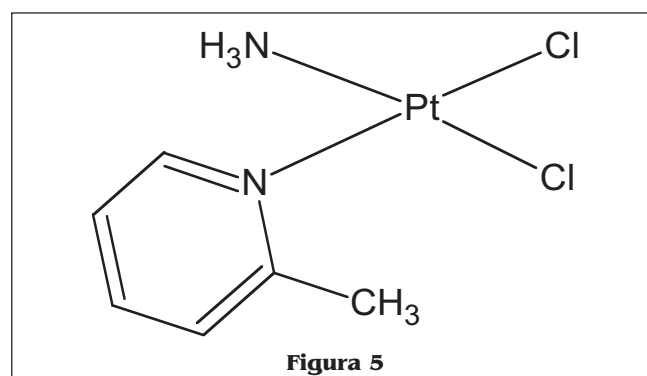
Sin embargo, nuevos descubrimientos han producido la síntesis de compuestos que difieren esta rela-

ción-estructura actividad pero presentan actividad antitumoral. Entre las estrategias recientes para la síntesis de nuevos complejos de Pt destacan:

I. Complejos de Pt impedidos estéricamente

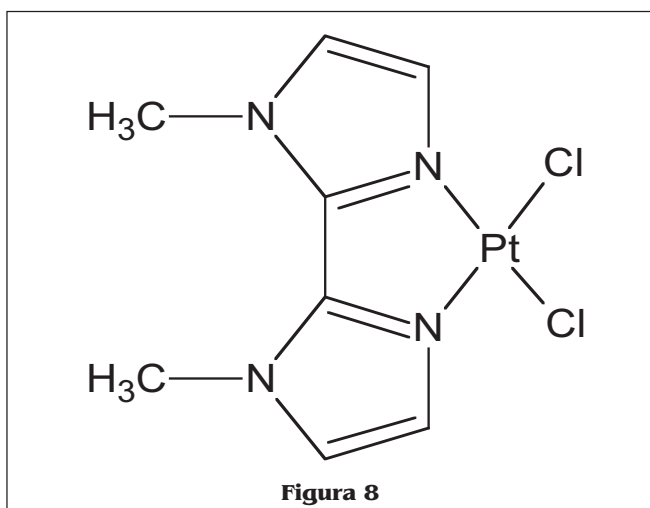
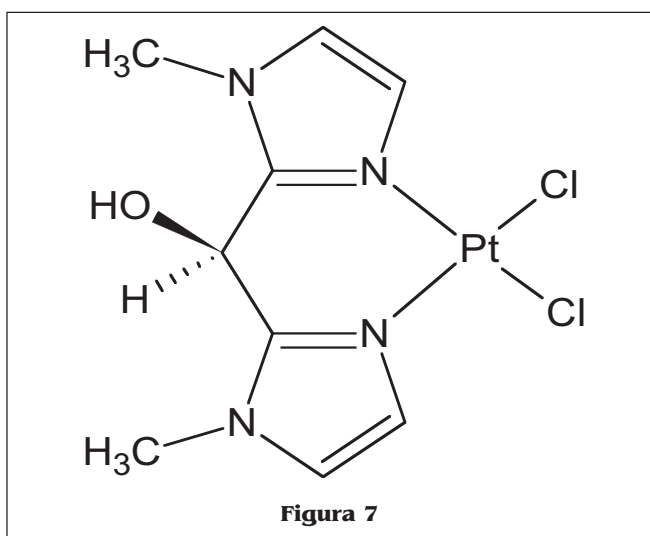
Existen diferentes vías por las cuales las células presentan resistencia al cisplatino, una de ellas es debido a la desactivación del complejo de platino por tioles celulares, como el glutatión (Berners-Price y Kuchel, 1990; Lai y col., 1989; Pendyala y col., 1995; Versantvoort y col., 1995), lo cual origina especies inactivas.

Para evitar la desactivación de los complejos de platino por este tipo de tioles los investigadores se basan en el hecho de que el impedimento estérico axial disminuye la velocidad de las reacciones de sustitución en los complejos planar cuadrado (Basolo y col., 1960).



Por ejemplo, si comparamos el complejo *cis*-Aminodicloro(2-metilpiridino)platino (II) (Figura 5) con el *cis*-Aminodicloro(3-metilpiridino)platino (II) (Figura 6), en el primero, el anillo de piridina presenta un ángulo de 102° con respecto al plano del complejo; en el

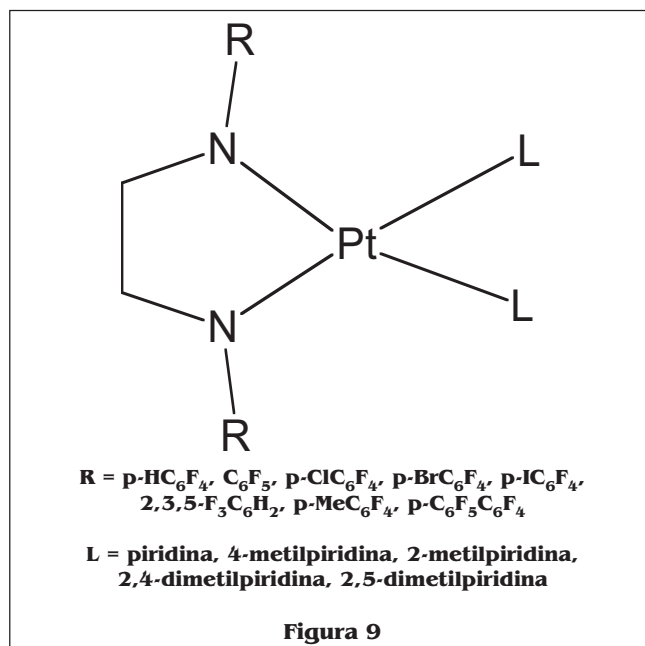
segundo, el anillo de piridina presenta un ángulo de solamente 48.9° (Sadler y col., 1998). Los 102° del anillo de piridina ubican al grupo metil de la posición 2 justamente sobre el plano del Pt, lo cual introduce un impedimento estérico sobre el centro metálico desde la parte superior. De hecho, se observa una menor proporción en la hidrólisis de este compuesto, comparado con el cisplatino y con el 3-metilpiridino.



Otro ejemplo es reportado por Reedijk (Reedijk, 1996). El autor, al comparar los complejos *cis*-[Pt(bmic)Cl₂] (Figura 7) y *cis*-[Pt(bmi)Cl₂] (Figura 8), observó que el primero presenta una citotoxicidad significativa, mientras que el segundo fue inactivo. Al determinar la estructura cristalina de ambos compuestos, por difracción de rayos X se observó que en el primer complejo los anillos de imidazol se encuentran a $30,6^\circ$ con respecto al plano del platino, mientras que en el segundo complejo los anillos de imidazol están solamente a $3,1^\circ$. El impedimento estérico hace al primer complejo menos susceptible a la desactivación por los tioles celulares.

La actividad antitumoral de los complejos *cis*-bis (piridino)platino (II) (Figura 9) con ligandos del tipo organoamidas ya ha sido reportada (Webster y col., 1992).

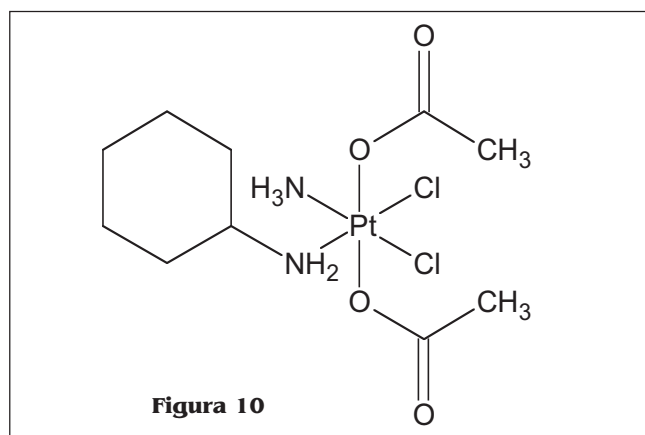
Esta actividad se atribuye al efecto estérico que producen los ligandos; al reemplazar estos ligandos por cloro se observa una reducción significativa de la citotoxicidad de los complejos.



Es interesante destacar que los últimos complejos presentados no cumplen estrictamente con la relación estructura-actividad propuesta por Cleare y Hoeschele; por ejemplo, estos compuestos no poseen ligandos del tipo N-H.

II. Complejos de platino (IV)

Algunos compuestos de Pt (IV) han presentado actividad citotóxica en células resistentes al cisplatino (Lebwohl y col., 1998), además de ser compuestos activos oralmente. Un ejemplo es el complejo JM216 (Figura 10).



Los complejos de Pt (IV) son mucho más inertes a las reacciones de sustitución de ligandos que sus contrapartes de Pt (II) (Hartley, 1973; Giandomenico, 1995), por lo cual son menos susceptibles a la desactivación metabólica. Se cree que los complejos de Pt (IV) son reducidos a Pt (II) por agentes intra y extracelulares antes de reaccionar con el ácido desoxiribonucleico, ADN, pero en la actualidad el mecanismo de este proceso *redox* no se conoce con exactitud.

Sin embargo se sabe que aquellos complejos de Pt (IV) que son más susceptibles a la reducción reaccionan con mayor rapidez con el ADN, y por lo tanto, presentan una mayor citotoxicidad.

La proporción con la cual se realiza la reducción depende de la capacidad electroattractora y del impedimento estérico que posean los ligandos.

Una ventaja que presentan los complejos de Pt (IV) es que ellos pueden ser modificados en muchos más centros. Adicionalmente, al comparar el porcentaje de dosis absorbida al suministrar el cisplatino, un complejo de Pt(II), con el porcentaje absorbido cuando se administra el JM216, un complejo de Pt(IV), se observó que el cisplatino se absorbe en un 37% mientras que el JM216 es absorbido en un 76%.

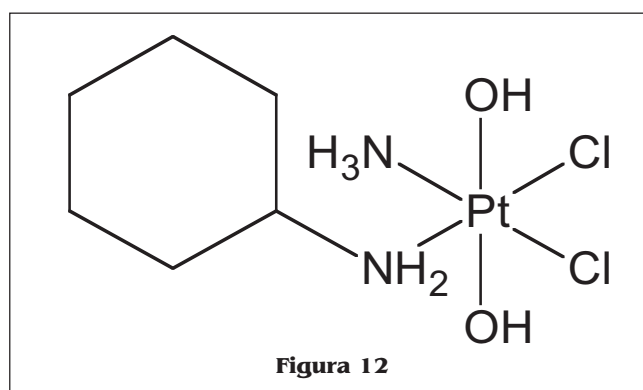
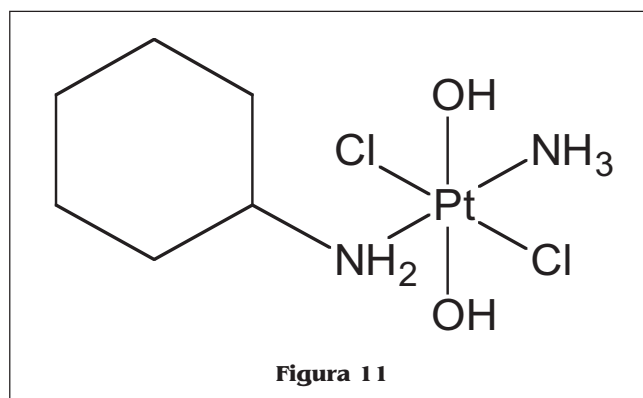
III. Complejos *trans* de Pt

El estudio empírico de estructura-actividad considera que los complejos *trans*-Pt deben ser inactivos; sin embargo, muchos investigadores han reportado que estos isómeros son activos tanto en pruebas *in vivo* como *in vitro* (Via y col., 1998; Kalinowska y col., 2005).

Una diferencia entre el cisplatino y el transplatino, es que el *trans* es cinéticamente más reactivo y por esto es más susceptible a la desactivación metabólica.

Como los isómeros *trans* del Pt forman diferentes aductos con el ADN (Kasparkova y col., 2003), estos complejos pudiesen ser activos contra células cisplatino resistentes.

Se cree que es posible que ocurra una isomerización del compuesto *trans* a un compuesto activo *cis* y esto explicaría la citotoxicidad presentada por estos compuestos; sin embargo, algunos investigadores han reportado que los isómeros *cis* son mucho menos activos que los *trans*; Kelland ha reportado que el complejo *trans,trans,trans*-amino-(ciclohexilamin)-diclorodihidro-oxoplatinium (IV) (JM335) (Figura 11) presenta una mejor actividad que su análogo *cis* JM149 (Figura 12) sobre líneas celulares de carcinoma de ovario (Kelland y col., 1994).



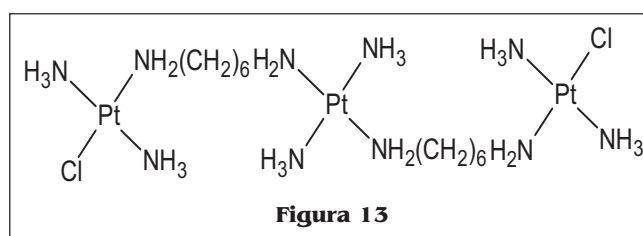
IV. Complejos multinucleares de Pt

En la búsqueda del diseño de nuevas drogas derivadas del platino, se ha planteado el desarrollo de nuevos complejos capaces de formar aductos diferentes con el ADN, para combatir las células resistentes al cisplatino.

Han sido reportados compuestos binucleares, trinucleares y tetranucleares (Cheng y col., 2005).

La reacción de estos compuestos multinucleares con el ADN es mucho más rápida que la que realiza el cisplatino.

Uno de los complejos más prometedores es el trinuclear Pt (II) BBR 3464 (Figura 13), el cual ha presentado citotoxicidad en células cisplatino-resistentes (Di Blasi y col., 1998; Perego y col., 1999).



Recientemente se ha reportado la síntesis de compuestos dinucleares de platino vía fase sólida (Reedijk y col., 2003).

V. Complejos con ligandos biológicamente activos

Muchos grupos de investigación han reportado la síntesis de complejos de Pt unidos a moléculas capaces de intercalarse en el ADN.

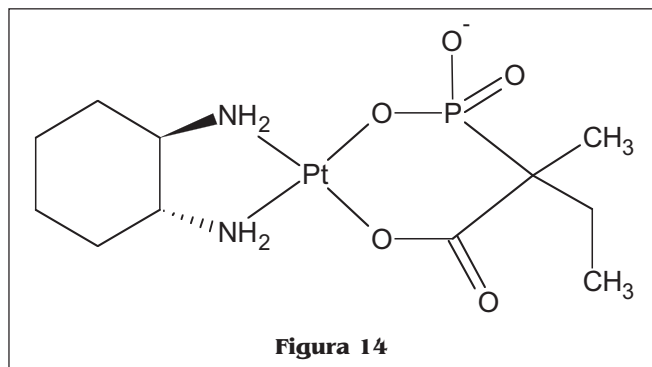
Los estudios de complejos de Pt con grupos biológicamente activos son de gran interés, ya que pueden originar actividades biológicas diferentes, dependiendo de la estructura del grupo unido al Pt (Denny y col., 1990; Denny y col., 1992; Gean y col., 1991).

VI. Complejos solubles en agua

Un objetivo importante es incrementar la solubilidad de los complejos de platino (formulario modelo OMS, 2004). La administración oral de compuestos ligeramente solubles se puede realizar, pero deben ser lo suficientemente solubles para ser absorbidos.

El método más empleado para incrementar la solubilidad en agua, es reemplazar los ligandos cloruro con carboxilatos. Además, con la oxidación de Pt (II) a los dihidroxi Pt (IV) se aumenta la solubilidad en agua.

Se han reportado compuestos del tipo carboxilatos fosfona aniónicos (Figura 14), los cuales presentan una alta solubilidad y estabilidad (Hollis y col., 1990).



Una vez conocidas las estrategias aplicadas en el desarrollo de complejos de platino, en la siguiente sección describiremos la manera en la cual estos compuestos desencadenan su actividad farmacológica.

Platino y ADN (Lippard y Jamieson, 1999; Navarro y Cisneros-Fajardo, 2003; Reedjik y Lempers, 1991)

El ADN es un ácido nucleico compuesto por polinucleótidos, donde cada nucleótido está compuesto por una base nitrogenada, un azúcar y un grupo fosfato.

Presenta una estructura de doble hélice, en la cual las cadenas se encuentran unidas mediante enlaces

de hidrógeno, formados entre bases nitrogenadas de cadenas opuestas. Siempre se establece este tipo de interacción entre una purina (adenina (A), guanina(G)) y una pirimidina (citosina (C), timina (T)). La citosina y la guanina se unen por tres puentes de hidrógeno, mientras que la adenina y la timina se unen por dos.

La información genética se encuentra en las bases, las cuales se ubican hacia el interior de la doble hélice, ya que estas son hidrofóbicas; hacia el exterior de la cadena se ubican los grupos fosfatos por poseer características hidrofílicas.

La estructura en doble hélice del ADN, con el apareamiento específico y limitado de bases (A-T, G-C) implica que el orden o secuencia de bases de una de las cadenas delimita automáticamente el orden de la otra; por eso se dice que las cadenas son complementarias.

Existen dos surcos, uno mayor y uno menor, que son importantes para la unión de las distintas proteínas al ADN. Cada vuelta del ADN posee 10,4 pares de bases.

En los últimos 35 años se han realizado numerosos estudios para tratar de describir el mecanismo de acción del cisplatino y sus derivados; estos estudios han demostrado que el blanco biológico de este tipo de compuestos es el ADN.

Se ha propuesto el siguiente mecanismo de acción; una vez incorporado al torrente sanguíneo, el cisplatino se encuentra en presencia de una alta concentración de iones cloruro (100 mM), lo cual evita la hidrólisis y mantiene al compuesto en forma neutra. Se ha demostrado que el transporte del cisplatino y sus análogos es independiente del pH, y además no está mediado por transportadores (Lippard y col., 1990; Sadler y col., 1995). Se cree que estos compuestos entran a la célula por difusión pasiva o activa; el mecanismo exacto aún no se tiene claro.

Una vez dentro de la célula la disminución de la concentración de iones cloruro (aprox. 20 mM) facilita la hidrólisis del compuesto de platino, lo cual origina una forma activada del tipo $(Pt(NH_3)_2Cl(H_2O))^+$, la cual reacciona rápidamente con blancos celulares.

Esta reacción de hidrólisis representa el paso limitante en la interacción con el ADN, con un tiempo de vida media, $t_{1/2}$, aproximado de 2 horas. Luego el acua-cisplatino se une al N7 de una guanina, el cual desplaza al agua rápidamente ($t_{1/2} = 0.1$ h) formando un aducto monofuncional. La formación del aducto bifuncional involucra la hidrólisis del segundo cloro con un tiempo de vida media de 2 horas.

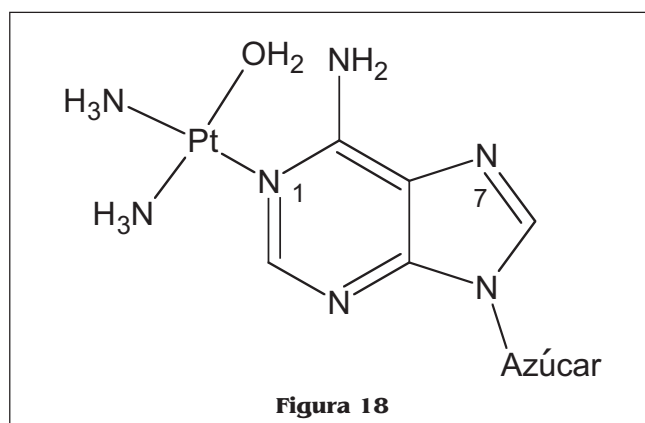
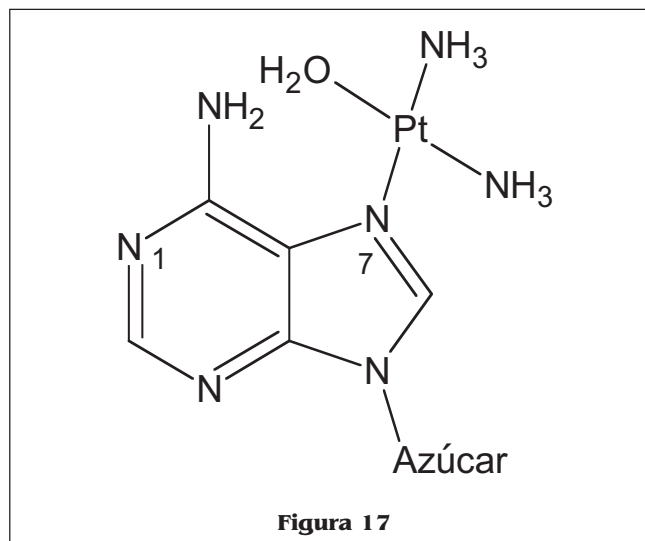
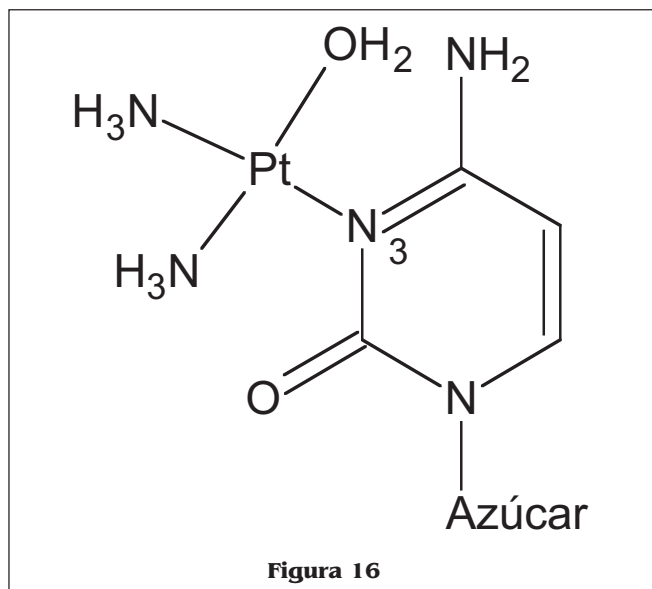
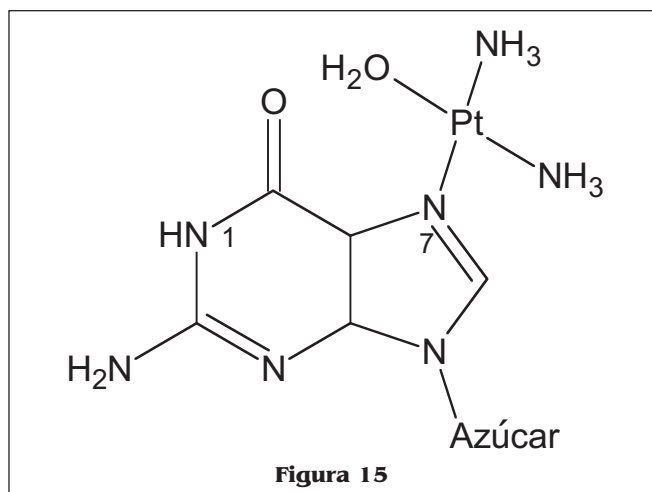
Se ha demostrado que los compuestos de platino interaccionan en mayor proporción con el ADN que

con el ARN y las proteínas. Un estudio realizado con cisplatino isotópicamente marcado (Akaboshi y col., 1992) (^{195m}Pt) y células HeLa demostró que:

- 1 entre $3 \times 10^4 - 3 \times 10^5$ moléculas de proteínas contenían un átomo de platino
- 1 entre 10 -1000 moléculas de ARN contenían un átomo de Pt
- Se encontraron 9 átomos de Pt por molécula de ADN.

En general se acepta que el ADN es el primer objetivo en el mecanismo de acción del cisplatino, y por esto la investigación en esta área ha predominado.

El platino posee una gran afinidad por el nitrógeno. A pH fisiológico los átomos del ADN que potencialmente pueden interaccionar con el Pt son N7 de la guanina (Figura 15), N3 de la citosina (Figura 16) y N7 (Figura 17) y N1 (Figura 18) de la adenina (Reedijk y Lempers, 1991).



Debido a la naturaleza bifuncional del cisplatino, se pueden formar diferentes aductos entre el ADN y el complejo, los cuales son:

- Intercadena: enlaza a dos bases nucleicas ubicadas en cadenas complementarias de ADN
- Intracadena: enlaza a dos bases nucleicas pertenecientes a la misma cadena de ADN
- Intrabase: enlaza a dos átomos diferentes presentes en una misma base
- Enlace cruzado ADN-proteína.

Una vez que el Pt se enlaza al ADN el producto formado es muy estable, únicamente nucleófilos fuertes como tiourea y cianuro pueden revertir el enlace ADN-Pt. Se han estudiado de forma cuantitativa los diferentes aductos que forma el platino con el ADN, y se han encontrado los siguientes resultados (Reedijk y Lempers, 1991):

- El aducto que se forma en mayor proporción (60%) es entre dos guaninas vecinas, denominado aducto-GG.

- El aducto formado entre una adenina y una guanina adyacentes (aducto-AG) se forma en un 25%; no se ha reportado la existencia de un aducto GA.
- El aducto formado entre dos guaninas no adyacentes se encuentra en un 10%, puede ser intercadena (aducto-GNG) o intracadena (aducto 1,3-GNG).
- El aducto monofuncional con una guanina representa el 5%.

La formación de los aductos de tipo Pt-ADN distorsionan estructuralmente al ADN originando la pérdida de estabilidad de la hélice. Lo cual interfiere con el normal funcionamiento de este componente celular. La replicación y la transcripción del ADN son esenciales para la división celular y la producción de proteínas; cualquier problema que presente este proceso producirá citotoxicidad.

Efectos del cisplatino en la replicación del ADN

La inhibición de la replicación por parte del cisplatino sugiere que este compuesto puede eliminar las células cancerígenas, bloqueando su capacidad de sintetizar nuevo ADN necesario para la división celular.

La replicación es un proceso que permite la perpetuación de la célula y que consiste en la duplicación de las dos hebras de ADN que conforman el material genético celular; por lo tanto, es la capacidad que tiene el ADN de hacer copias o réplicas de su información genética en general (Murray y col., 2004).

Efectos del cisplatino en el ciclo celular

El ciclo de una célula es análogo al de un ser vivo, «nace» mediante la división de una célula progenitora, crece, y se reproduce. Todo este proceso es lo que constituye un ciclo celular completo. El ciclo celular comprende cuatro períodos denominados G1, S, G2 y mitosis.

El período G1, llamado primera fase de crecimiento, se inicia con una célula hija que proviene de la división de la célula madre. La célula aumenta de tamaño, se sintetiza nuevo material citoplásmico, sobre todo proteínas y ARN.

Es el período S o de síntesis, en el que tiene lugar la duplicación del ADN. Cuando acaba este período, el núcleo contiene el doble de proteínas nucleares y de ADN que al principio.

El período G2, o segunda fase de crecimiento, en el cual se sigue sintetizando ARN y proteínas; el final de este período queda marcado por la aparición de cambios en la estructura celular, que se hacen visibles con el microscopio y que nos indican el principio de

la mitosis o división celular. Al período de tiempo que transcurre entre dos mitosis, y que comprende los períodos G1, S, y G2, se le denomina Interfase.

El cisplatino posee la habilidad de detener el ciclo celular en la fase G2, lo cual impide que se transcriban los genes necesarios para la mitosis.

Efectos del cisplatino en los telómeros y telomerasas

La región telomérica del ADN es un sitio susceptible al ataque del cisplatino. Los telómeros se encuentran ubicados al final de los cromosomas; estas repeticiones de los telómeros 5'-TTAGGG-3' son las causantes de la reproducción de las cadenas. Su función principal es proteger el final del cromosoma de la degradación, para asegurar que la información genética se transmita correctamente en la división celular.

La unión del cisplatino a la cadena del ADN, evita las repeticiones teloméricas (la porción terminal de los cromosomas). Para cada ciclo de la división celular, el DNA replicado comienza a ser más corto que el inicial y cuando los telómeros comienzan a ser críticamente cortos, las células detienen su división y mueren.

Para evitar esto, existen las enzimas llamadas telomerasas, las cuales son las encargadas de mantener el tamaño ideal de los telómeros. Las telomerasas son ricas en residuos de guanosina, los cuales son susceptibles al ataque del cisplatino debido a que poseen guanina (Reedijk y Lempers, 1991).

No solamente es importante entender cómo el cisplatino inhibe el desarrollo celular (afectando al ADN, entre otras causas); entender cómo las células responden a los daños que origina el cisplatino sobre el ADN, también puede ayudar a conocer qué aspectos son necesarios para mejorar el uso del platino en quimioterapia.

Resistencia celular

La resistencia celular al cisplatino puede ser intrínseca de la célula o puede ser adquirida. Se han identificado tres aspectos que pueden ser responsables de esta resistencia; estos son:

1. Cambios en la concentración intracelular de la droga
2. Incremento en la producción de tioles intracelulares
3. Incremento en la capacidad de las células de reparar el ADN

Sin embargo muchos estudios realizados arrojan resultados contradictorios.

La resistencia de las células al cisplatino parece ser una respuesta celular multifactorial, lo cual incrementa la dificultad de entender completamente este proceso.

En lo que respecta a la concentración intracelular de la droga, se han realizado estudios (Eastman y Schulte, 1988; Eastman y col., 1987) en los cuales se mide la cantidad de droga presente en el núcleo de la célula. Este experimento arrojó que en las células resistentes la cantidad de droga presente en el núcleo es entre 40-50% menor que la cantidad de droga presente en el núcleo de las células sensibles. Sin embargo, otros experimentos (Foka y col., 1988) han mostrado que la diferencia en la cantidad de droga acumulada no es significativa.

Otra respuesta celular que puede estar relacionada con la resistencia al cisplatino es el incremento en la concentración de tioles intracelulares, los cuales pueden reaccionar e inactivar al cisplatino.

Desde el descubrimiento del cisplatino como droga antitumoral, el estudio de su mecanismo de acción se ha enfocado hacia el ADN, sin embargo existen muchas otras biomoléculas importantes que pueden reaccionar con compuestos amino-platinados. Algunas de ellas son cisteína, metionina, glutatión, metalotionina, entre otras proteínas.

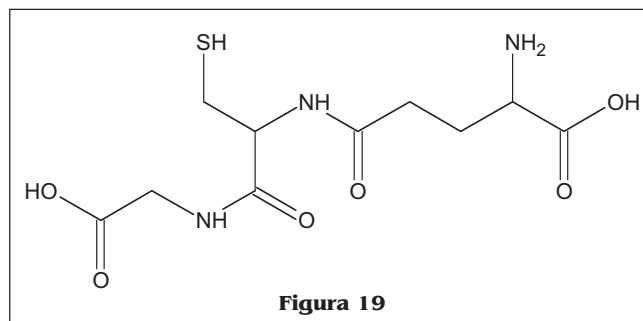
En general se cree que la interacción de las drogas antitumorales de platino con biomoléculas que contengan azufre se considera negativo para la actividad antitumoral, ya que estas interacciones pueden ser responsables de la inactivación del compuesto, del desarrollo de la resistencia celular y de los efectos secundarios.

Las reacciones de biomoléculas que contienen azufre con el cisplatino, previenen la unión efectiva con el ADN por parte de la droga.

Se ha demostrado que la actividad antitumoral del cisplatino se ve disminuida si se coadministra con metionina, e incluso un bis-aducto entre el cis-Pt y la metionina ha sido aislado de la orina de los pacientes (Reedijk y Lempers, 1991).

Glutation (γ -glutamilcisteinglicina, GSH) (Figura 19) es el tiol más abundante en las células y se encuentra en concentraciones que van entre 0.5-10 mM (Chu, 1994). Este tripéptido es sintetizado en dos pasos que son dependientes del ATP.

La enzima γ -glutamilcisteína sintetasa esta involucrada en el primer paso de esta reacción de síntesis, y puede ser inhibida por la D,L-butionina-(S,R)sulfoximina (BSO); el segundo paso involucra a la enzima glutatión sintetasa para completar la síntesis del tripéptido.



Estudios realizados (Hosper y col., 1988) han demostrado que la concentración de GSH en células resistentes al cisplatino es mayor en comparación con las concentraciones presentes en células sensibles.

En algunos casos la resistencia al cisplatino puede ser revertida utilizando BSO para eliminar la producción de GSH.

Los experimentos realizados en esta área han demostrado que el incremento en los niveles de GSH es un factor involucrado en la resistencia al cisplatino, pero no es un requerimiento necesario.

Otro tiol intracelular que puede estar involucrado en la resistencia al cisplatino es la metalotionina. Esta proteína consiste en una cadena de 61-62 aminoácidos, 20 de los cuales son cisteínas y se cree que esta involucrada en el mecanismo de detoxificación de los iones de metales pesados en las células (Chu, 1994). En estudios realizados sobre células que han adquirido resistencia al cisplatino, las mismas han mostrado altas concentraciones de esta proteína.

Otro mecanismo de inactivación relacionado con las biomoléculas que contienen azufre puede ser la reacción de éstas con el mono-aducto de Pt-ADN, lo cual evita la formación del bis-aducto tóxico.

Estudios mecanísticos de la reacción de los tioles con el cisplatino han revelado que el reactivo de azufre sustituye a un cloruro antes de que éste sea sustituido por el agua. Esto se demostró midiendo el tiempo de reacción entre complejos de platino hidratados y clorados, lo cual arrojó que la velocidad de reacción de las biomoléculas de azufre era mayor con los compuestos clorados.

Otro mecanismo que potencialmente puede estar ligado a la resistencia al cisplatino es la capacidad de las células de incrementar sus mecanismos de reparación del ADN.

El aducto de cisplatino-ADN es reparado en las células primariamente por un mecanismo denominado reparación por escisión de nucleótidos (en inglés NER) (Chu, 1994). Este procedimiento involucra a muchas proteínas y es empleado por la célula para reparar lesión-

nes originadas sobre el ADN, entre las que se encuentran daños causados por radiación UV.

La enfermedad autosómica recesiva del *Xenoderma pigmentosum* (*xenos*: seca(o); *derma*: piel), en los humanos se debe a la falta del poder reparador de la piel de las lesiones causadas por luz UV, defectos en el NER. Los individuos que presentan esta enfermedad son extremadamente sensibles a la radiación UV y presentan predisposición a desarrollar cáncer de piel. XP presenta siete grupos genéticos complementarios XP-A a XP-G y una forma variable denominada XP-V. Los grupos XP-A hasta XP-G presentan algún tipo de deficiencia que afecta el mecanismo de NER. Las células que presentan XP poseen una elevada sensibilidad al tratamiento con cisplatino, lo cual indica que el mecanismo de NER es importante en el procesamiento de la droga (Reedijk y col., 1998; van Dijk y col., 1985).

Estudios realizados con células HeLa han demostrado que el aducto cis-GBG es reparado con mayor eficiencia que los aductos cis-AG o cis-GG (Lippard y col., 1994). No se detectó reparación para el aducto intercadena de platino. El aducto cis-GBG es reparado entre 15-20 veces mejor que los aductos 1,2-intracadena (Moggs y col., 1997).

Sin embargo algunos experimentos describen que una alta tasa de reparación de ADN no implica necesariamente resistencia al cisplatino, lo cual sugiere que éste mecanismo debe estar ligado a otra respuesta celular para originar la resistencia hacia el cisplatino.

Nuevos cocteles

En el tratamiento del cáncer, es usual la aplicación de diversos fármacos, que presentan diferentes mecanismos de acción, de manera simultánea, en lo que se denomina «cocteles».

En la actualidad existe gran variedad de mezclas que han presentado buenos resultados en el tratamiento de la enfermedad. Entre algunos ejemplos destacan:

- El tratamiento de cancer de sitio primario desconocido utilizando carboplatino (Figura 2), doxorubicina y etoposida, actualmente en fase clínica II (Piga y col., 2004).
- El tratamiento del cáncer de pulmón con vinorelbina, gemcitabina y cisplatino (Figura 1), estudio de fase clínica II (Niho y col., 2002).
- El tratamiento del cáncer de pulmón con nedaplatino (Figura 4) y gemcitabina, actualmente en fase clínica I (Fukuoka y col., 2004).
- El tratamiento del cáncer colon-rectal con gemcitabina, oxaliplatino (Figura 3), 5-fluorouracilo y áci-

do fólico, actualmente en fase clínica II (Francini y col., 2004).

- El tratamiento del cáncer de pulmón con cisplatino (Figura 1) y paclitaxel, actualmente en estudio de fase clínica I/II (Yoshimura y col., 2004).

Conclusión

De los cientos de compuestos derivados del Pt que son evaluados como agentes antitumorales, únicamente una fracción muy pequeña presenta resultados promisorios para ser llevados a estudios de fase clínica. Las nuevas drogas de Pt deben ser capaces de reducir la toxicidad, incrementar su espectro de actividad y poder ser administradas por vía oral; estos son los puntos que deben considerarse para producir la nueva generación de agentes quimioterapéuticos derivados del Pt para el tratamiento del cáncer.

Referencias

- AKABOSHI, M.; KAWAI, K.; MAKI, H.; AKUTA, K.; UJENO, Y.; MIYAHARA, T.; 1992. The number of platinum atoms binding to DNA, RNA and protein molecules of HeLa cells treated with cisplatin at its mean lethal concentration. *Jpn. J. Cancer Res.* 83: 522-526.
- BASOLO, F.; CHATT, F.J.; GRAY, H.B.; PEARSON, R.G.; SHAW, B.L.; 1960. Kinetics of the Reaction of Alkyl and Aryl Compounds of the Nickel Group with Pyridine. *J. Chem. Soc.* 2207.
- BERNERS-PRICE, S.J.; KUCHEL, P.W.; 1990. Reaction of cis- and trans-(PtCl₂(NH₃)₂) with reduced glutathione inside human red blood cells, studied by ¹H and ¹⁵N-(¹H) DEPT NMR. *J. Inorg. Biochem.* 38: 327-345.
- CHENG, H.; HUQ, F.; BEALE, P.; FISHER, K.; 2005. Synthesis, characterization, activities, cell uptake and DNA binding of trinuclear complexes: {[trans-PtCl(NH₃)₂]₂m-[trans-Pt(NH₃)₂(2-hydroxypyridine)-(H₂N(CH₂)₆NH₂)Cl₄]. 40: 772-781.
- CHU, G.; 1994. Cellular responses to cisplatin. *J. Biol. Chem.* 269: 787-790.
- CLEARE, M.J.; HOESCHELE, J.D.; 1973. Studies on the antitumor activity of group VIII transition metal complexes. Part I. Platinum (II) complexes. *Bioinorg. Chem.* 2: 187-210.
- CLEARE, M.J.; HOESCHELE, J.D.; 1973. Anti-tumor platinum compounds relationship between structure and activity. *Plat. Met. Rev.* 17: 2-13.
- DE GREGORIO, M.W.; GANDARA, D.R.; HOLLERAN, W.M.; PÉREZ, E.A.; KING, C.C.; WOLD, H.G.; Montine, T.J.; Borch, R.F.; 1989. High-dose cisplatin with diethyldithiocarbamate (DDTC) rescue therapy: preliminary pharmacologic observations. *Cancer Chemother Pharmacol.* 23: 276-278.
- DENNY, W.A.; PALMER, B.D.; LEE, H.H.; JOHNSON, P.; BAGULEY, B.C.; WICKHAM, G.; WAKELIN, L.P.; MCFADYEN, W.D.; 1990. DNA-directed alkylating agents. 2. Syn. and biological activity of platinum complexes linked to 9-Anilinoacridine. *J. Med. Chem.* 33: 3008-3014.

- DENNY, W.A.; PALMER, B.D.; LEE, H.H.; CHIN, M.; BAGULEY, B.C.; WICKHAM, G.; WAKELIN, L.P.; MCFADYEN, W.D.; 1992. DNA-directed alkylating agents. 5. Acridinecarboxamide derivatives of (1,2-diaminoethane)-dichloroplatinum(II). *J. Med. Chem.* 35: 2983-2987.
- DI BLASI, P.; BERNAREGGI, A.; BEGGIOLIN, G.; PIAZZONI, L.; MENTA, E.; FORMENTO, M.L.; 1998. Cytotoxicity, cellular uptake and DNA binding of the novel trinuclear platinum complex BBR 3464 in sensitive and cisplatin resistant murine leukemia cells. *Anticancer Res.* 18: 3113-3117.
- EASTMAN, A.; SCHULTE, N.; 1988. Enhanced DNA repair as a mechanism of resistance to cis-diamminedichloroplatinum(II). *Biochemistry.* 27: 4730-4734.
- EASTMAN, A.; RICHON, V.M.; SCHULTE, N.; 1987. Multiple mechanisms of resistance to cis-diamminedichloroplatinum(II) in murine leukemia L1210 cells. *Cancer Res.* 47: 2056-2061.
- ELFERINK, F.; VANDER VIJGH, W.J.; KLEIN, I.; PINEDO, H.M.; 1986. Interaction of cisplatin and carboplatin with sodium thiosulfate: reaction rates and protein binding. *Clin. Chem.* 32: 641-645.
- FOKA, M.; BELEHRADEK, J., JR.; PAOLETTI, J.; 1988. Interaction of cis-diamminedichloroplatinum (II) with sensitive and resistant L1210 cell lines Drug binding to nuclei and DNA. *Biochem. Pharmacol.* 37: 3467-3472.
- FRANCINI, G.; CORREALE, P.; MESSINESE, S.; CARAGLIA, M.; MARSILI, S.; PICCOLOMINI, A.; PETRIOLI, R.; CECIARINI, F.; MICHELI, L.; NENCINI, C.; NERI, A.; VUOLO, G.; GUARNIERI, A.; ABBRUZZESE, A.; PRETE, S.D.; GIORGI, G.; 2004. A novel biweekly multidrug regimen of gemcitabine, axaliplatin, 5-fluorouracil (5-FU), and folinic acid (FA) in pretreated patients with advanced colorectal carcinoma. *Br. J. Cancer.* 90: 1710-1714.
- FUKUOKA, M.; KURATA, T.; TAMURA, N.; YAMAMOTO, N.; NOGAMI, T.; SATOH, T.; KANEDA, H.; NAKAGAWA, K.; 2004. Combination phase I study of nedaplatin and gemcitabine for advanced non-small-cell lung cancer. *Br. J. Cancer.* 90: 2092-2096.
- GEAN, K.F.; BENSOSHAN, R.; RAMU, A.; RINGEL, I.; KATZHENDES, J.; GIBSON, D.; 1991. Preparation, characterization and the anticancer activity of a novel series of triaminemonochloroplatinum(II) cations linked to anthraquinone intercalators. *Eur. J. Med. Chem.* 26: 593.
- GIANDOMENICO, C.M.; ABRAMS, M. J.; MURRER, B.A.; VOLLANO, J.F.; RHEINHEIMER, M.I.; WYER, S.B.; BOSSARD, G.E.; HIGGINS, J.D.; 1995. *Inorg. Chem.* 34, 1015.
- HARTLEY, F.R.; 1973. *The Chemistry of Platinum and Palladium.* John Wiley and Sons: New York.
- HOLLIS, L.S.; MILLER, A.V.; AMUNDSEN, A.R.; SCHURIG, J E.; STERN, E.W.; 1990. Cis-Diamineplatinum(II) Complexes Containing Phosphono Carboxylate Ligands as Antitumor Agents. *J. Med. Chem.* 33: 105-111.
- HOSPER, G.A.P.; MULDER, N.H.; DE JONG, B.; de Ley, L.; Uges, D.R.A.; Fichtinger-Schepman, A.M.J.; Schepper, R.J., de Vries, E.G.E.; 1988. Characterization of a human small cell lung carcinoma cell line with acquired resistance to cis-diamminedichloroplatinum(II) in vitro. *Cancer Res.* 48: 6803-6807.
- KALINOWSKA, U.; MATLAWSKA, K.; CHECINSKA, L.; DOMAGALA, M.; KONTEK, R.; OSIECKA, R.; OCHOCKI, J.; 2005. Synthesis, spectroscopy and antiproliferative activity of cis- and trans-platinum(II) complexes with diethyl (pyridin-4-ylmethyl)-phosphate. X-ray crystal structure of *trans*-Pt(II) complex. 99: 2024-2031.
- KASPARKOVA, J.; MARINI, V.; NAJAJREH, Y.; GIBSON, D.; BRABEC, V.; 2003. DNA binding mode of the cis and trans geometries of new antitumor nonclassical platinum complexes containing, piperazine, or 4-picoline ligand in cell-free media. Relations to their activity in cancer cell lines. *Biochemistry.* 42: 6321-6332.
- KELLAND, L.R.; BARNARD, C.F.J.; MELLISH, K.J.; JONES, M.; GODDARD, P.M.; VALENTI, M.; BRYANT, A.; MURRER, B.A.; HARRAP, K.R.A.; 1994. Novel *trans*-platinum coordination complex possessing *in vitro* and *in vivo* antitumor activity. *Cancer Res.* 54: 5618-5622.
- LAI, G.M.; OZOLS, R.F.; YOUNG, R.C.; HAMILTON, T C.; 1989. Effect of glutathione on DNA repair in cisplatin-resistant human ovarian cancer cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* 81: 535-539.
- LEBWOHL, D.; CANETTA, R.; 1998. Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update. *Eur. J. Cancer.* 34: 1522-1534.
- LIPPARD, J.S.; JAMIESON, E.R.; 1999. Structure, recognition, and processing of cisplatin-DNA adducts. *Chem. Rev.* 99: 2467-2498.
- LIPPARD, S.J.; LEPRE, C.A.; Bancroft, D.P.; 1990. Pt-195 nmr kinetic and mechanistic studies of cis-diamminedichloroplatinum and trans-diamminedichloroplatinum(ii) binding to dna. *J. Am. Chem. Soc.* 112: 6860-6871.
- LIPPARD, S.J.; HUANG, J.C.; ZAMBLE, D.B.; REARDON, J.T.; SANCAR, A.; 1994. HMG-domain proteins specifically inhibit the repair of the major DNA adduct of the anticancer drug cisplatin by human excision nuclease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 10394-10398.
- MOGGS, J.G.; SZYMKOWSKI, D.E.; YAMADA, M.; KARRAN, P.; WOOD, R.; 1997. D. Nucleotide Excision Repair in Mammalian Cells. *Nucleic Acids Res.* 25: 480-490.
- MSDS; 2002. Anuario de Epidemiología y estadística Vital.
- MURRIA, R.; MAYES, P.; GRANNER, D.; RODWELL, V.; 2004. Harper Bioquímica ilustrada. 16ª ed.
- NAVARRO, M.; CISNEROS-FAJARDO, E.J.; 2003. El ADN y sus interacciones con complejos metálicos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Química.* 26: 15-20.
- NIHO, S.; KUBOTA, K.; GOTO, K.; OHMATSU, H.; MATSUMOTO, T.; KAKINUMA, R.; NISHIWAKI, Y.; 2002. Triplet chemotherapy with vinorelbine, gemcitabine, and cisplatin for advanced non-small cell lung cancer: a phase II study. *Br. J. Cancer.* 87: 1360-1364.
- NOBUYA, K.; JONSON, K.; TOMINAGA, M.; IWASAKI, T.; FUKUMOTO, T.; MURAMATSU, S.; SUGIMOTO, T.; TSUCHIDA, S.; TAKAMATSU, M.; SUZUKI, Y.; KURODA, Y.; 2001. Effect of sodium thiosulfate on cisplatin removal with complete hepatic venous isolation and extracorporeal charcoal hemoperfusion: a pharmacokinetic evaluation. *Annals of Surgical Oncology.* 8: 449-457.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD; 2004. Formulario modelo. Sección 8.
- PENDYALA, L.; CREAVEN, P.J.; PÉREZ, R.; ZDANOWICZ, J.R.; RAGHAVAN, D.; 1995. Intracellular glutathione and cytotoxicity of platinum complexes. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 36: 271-278.

- PEREGO, P.; CASERINI, C.; GATTI, L.; CARENINI, N.; ROMANELLI, S.; SUPINO, R.; COLANGELO, D.; VIANO, L.; LEONE, R.; SPINELLI, S.; PEZZONI, G.; MAZOTTI, C.; FARREL, N.; ZNINO, F.; 1999. A Novel Trinuclear Platinum Complex Overcomes Cisplatin Resistance in an Osteosarcoma Cell System. *Mol. Pharm.* 55: 528-534.
- PIGA, A.; NORTILLI, R.; CETTO, G.L.; CARDARELLI, N.; FEDELI, L.S.; FIORENTINI, G.; D'APRILE, M.; GIORGI, F.; PARZIALE, A.P.; CONTU, A.; MONTIRONI, R.; GESUITA, R.; CARLE, F.; CELLERINO, R.; 2004. Carboplatin, doxorubicin and etoposide in the treatment of tumors of unknown primary site. *Br. J. Cancer.* 90: 1898-1904.
- REEDIJK, J.; LEMPERS, E.L.M.; 1991. Interaction of platinum amine compounds with sulfur-containing biomolecules and DNA fragments. *Adv. Inorg. Chem.* 37: 175-211.
- REEDIJK, J.; DIJT, F.J.; BERENDS, F.; FICHTINGER-SCHPEMAN, A.M.J.; 1998. Formation and repair of cisplatin-induced adducts to DNA in cultured normal and repair-deficient human fibroblasts. *Cancer Res.* 48: 6058-6062.
- REEDIJK, J.; 1996. Improved understanding in platinum anti-tumour chemistry. *Chem. Commun.* 801-806.
- REEDIJK, J.; VAN ZUTPHEN, S.; ROBILLARD, M.S.; VAN DER MAREL, G.A.; OVERKLEEF, H.S.; den Dulk, H.; Brouwer, J.; 2003. Extending solid-phase methods in inorganic synthesis: the first dinuclear platinum complex synthesised *via* the solid phase. *Chem. Commun.* 634-635.
- REEDIJK, J.; BLOEMINK, M.J.; ENGELKING, H.; KARENTZPOULOS, S.; KREBS, B.; 1996. Synthesis, Crystal Structure, Antitumor Activity, and DNA-Binding Properties of the New Active Platinum Compound (Bis(N-methylimidazol-2-yl)carbinol)dichloroplatinum(II), Lacking a NH Moiety, and of the Inactive Analog Dichloro(N π , N 1 -dimethyl-2, 2'-bimimidazole)platinum(II) *Inorg. Chem.* 35: 619-627.
- ROSEMBERG, B. VAN CAMP, L.; KRIGAS, T.; 1965. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from platinum electrode. *Nature.* 205: 698-699.
- SADLER, P.J.; BARNHAM, K.J.; BERNERS-PRICE, S.J.; FRENKIEL, T.A.; FREY, U.; 1995. Platination Pathways for Reactions of Cisplatin with GG Single-Stranded and Double-Stranded Decanucleotides. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 34: 1874-1877.
- SADLER, P. J.; CHEN, Y.; GUO, Z.; PARSONS, S.; 1998. Stereospecific and kinetic control over the hydrolysis of a sterically hindered platinum picoline anticancer complex. *Chem. Eur. J.* 4: 672-676.
- VAN DIJK, M.; PLOOY, A.C.M.; BERENDS, F.; LOHMAN, P.H.M.; 1985. Formation and repair of DNA interstrand cross-links in relation to cytotoxicity and unscheduled DNA synthesis induced in control and mutant human cells treated with *cis*-diamminedichloroplatinum(II). *Cancer Res.* 45: 4178-4184.
- VERSANTVOORT, C.H.M.; BROXTERMAN, H.J.; BAGRIJ, T.R.; SCHEPER, J.; TWENTYMAN, P.R.; 1995. Regulation by glutathione of drug transport in multidrug resistant human lung tumour cell lines overexpressing *MRP*. *Br. J. Cancer.* 72: 82-89.
- VIA, L.D.; DI NOTO, V.; VIDALLI, M.; SCOMAZZON, F.; NI, D.; DEANA, R.; 1998. Action of antitumoral platinum complexes on in vitro platelet functions. *Hemico-Biological Interactions.* 110: 203-220.
- WEBSTER, L.K.; DEACON, G.B.; BUXTON, D.P.; HILLCOAT, B.L.; JAMES, A.M.; ROOS, I.A.G.; THOMSON, R.J.; WAKELIN, L.P.G.; WILLIAMS, T.L.; 1992. *Cis*-Bis(pyridine)platinum(II) organoamides with unexpected growth inhibition properties and antitumor activity. *J. Med. Chem.* 35: 3349-3353.
- WEISS, R.B.; CHRISTIAN, M.C.; 1993. New cisplatin analogues in development. A review. *Drugs.* 46: 360-377.
- WONG, E.; GIANDOMENICO, C.M.; 1999. Current status of platinum-based antitumor drugs. *Chem. Rev.* 99: 2451-2466.
- YOSHIMURA, N.; KUDOH, S.; MUKOHARA, T.; YAMAUCHI, S.; YAMADA, M.; KAWAGUCHI, T.; NAKAOKA, Y.; HIRATA, K.; YOSHIKAWA, J.; 2004. Phase I/II study of cisplatin combined with weekly paclitaxel in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Br. J. Cancer.* 90: 1184-1189.

Recibido: marzo 2005
Aceptado: mayo 2005