

## **Nuevos agentes quimiosensibilizantes del carcinoma hepatocelular al sorafenib por bloqueo de las bombas ABC exportadoras de fármacos**

Silvia Di Giacomo<sup>1</sup>, Laura Sánchez-Vicente<sup>2</sup>, Antonella Di Sotto<sup>1</sup>, María J. Monte<sup>2,3</sup>, Marta R. Romero<sup>2,3</sup>, Maitane Asensio<sup>2</sup>, Marta Alonso-Peña<sup>2</sup>, Faten Al-Aqil<sup>2</sup>, Gabriela Mazzanti<sup>1</sup>, José J. G. Marín<sup>2,3</sup>, Oscar Briz<sup>2,3</sup>.

<sup>(1)</sup> *Department of Physiology and Pharmacology "Vittorio Erspamer", Sapienza University of Rome, Italy.*

<sup>(2)</sup> *Laboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de fármacos (HEVEFARM), IBSAL, Universidad de Salamanca.*

<sup>(3)</sup> *Centro Nacional de Investigación Biomédica en Red para el Estudio de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). Instituto de Salud Carlos III.*

**Introducción:** La reducción de la concentración intracelular de fármacos antineoplásicos es un importante mecanismo de resistencia tumoral a la quimioterapia. Una elevada expresión de bombas exportadoras de fármacos de la superfamilia de proteínas ABC en las células de carcinoma hepatocelular (HCC) puede estar implicada en la limitada eficacia del sorafenib en estos pacientes. La inhibición de la actividad de dichas proteínas por agentes no citotóxicos constituye una estrategia prometedora para la quimiosensibilización del HCC al sorafenib.

**Objetivo:** Investigar si el óxido de  $\beta$ -cariofileno (CRYO), un sesquiterpeno de origen natural componente de muchos aceites esenciales presentes en vegetales, puede utilizarse a dosis inocuas para la salud con objeto de bloquear la actividad de las proteínas ABC implicadas en la resistencia al sorafenib y así aumentar la sensibilidad de las células de HCC a este fármaco.

**Métodos:** Mediante el cultivo de células Alexander de hepatoma humano en presencia de blasticidina durante 8 semanas y doble selección clonal se obtuvo una sublínea resistente a múltiples fármacos (Alexander/R), incluido el sorafenib. Además se utilizaron líneas celulares con fenotipo MDR de hepatoma de ratón (Hepa 1-6/R) y de adenocarcinoma de pulmón humano (COR-L23/R). La determinación de la expresión de genes implicados en la quimiorresistencia al sorafenib se llevó a cabo mediante RT-PCR cuantitativa.

**Resultados:** En células Alexander/R se observó una marcada sobreexpresión de MDR1, MRP1, MRP2, MRP4 y MRP5 al compararla con la de las células silvestres. Por el contrario, los niveles de mRNA de MRP3 y de BCRP fueron muy bajos. Todas las líneas celulares ensayadas presentaron poca sensibilidad al efecto citostático del sorafenib, determinado por el test de formazán. Concentraciones no tóxicas de CRYO revirtieron parcialmente la resistencia al sorafenib, al igual que el diclofenaco, un inhibidor típico de las MRP, mientras que el verapamilo, que inhibe la MDR1, tuvo un efecto débil. Tanto el CRYO como el diclofenaco y el verapamilo aumentaron la carga celular de sorafenib, determinada por HPLC-MS/MS. El CRYO inhibió la exportación al exterior celular de rodamina 123 (sustrato de MDR1) y de calceína (sustrato de MRP1 y MRP2), pero no de carboxifluoresceína (sustrato de MRP3, MRP4 y MRP5), determinados por citometría de flujo en células Alexander. Los resultados preliminares con modelos animales de HCC sugieren un efecto quimiosensibilizante de la co-administración de CRYO y sorafenib.

**Conclusión:** Se ha investigado un nuevo agente que a dosis no citotóxicas es capaz de inhibir varias proteínas ABC y que, por lo tanto, podría ser útil en combinación con el sorafenib para aumentar la concentración intracelular de este fármaco y potenciar su efecto citostático frente al HCC.