

Papel de las proteínas de membrana en la resistencia al tratamiento médico de la epilepsia

Jenny Paola Ospina Ríos

Estudiante de Medicina, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira.

Angélica María Álvarez Roldán

Estudiante de Medicina, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira.

Hans Carmona Villada, MD.

Neurocirujano, Docente Especialidades Quirúrgicas, programa de Medicina, Universidad Tecnológica de Pereira.

Resumen

La epilepsia es una crisis cerebral consecuencia de una descarga neuronal excesiva, y su prevalencia en Colombia es de 10.8 por 1000 habitantes. Los pacientes con epilepsia resultan resistentes al tratamiento farmacológico en un 40% de los casos, por lo cual, se recurre a la administración de fármacos en altas dosis o la polifarmacia, terapias que resultan poco favorables para los pacientes por sus reacciones adversas al medicamento. Se ha logrado aislar genes responsables de la codificación de proteínas encargadas del transporte de los fármacos hacia el exterior del sistema nervioso central, y por lo tanto involucradas en dicha resistencia al tratamiento; estas proteínas son la P-glicoproteína, la proteína asociada a la multirresistencia, la proteína mayor Vault, la proteína de resistencia en el cáncer de mama y la RLIP-76; algunas de ellas expresadas tanto en tejido epileptogénico como periférico no nervioso.

Palabras clave: Epilepsia, farmacorresistencia, sobreexpresión genética, proteína transportadora.

Recibido para publicación: 03-05-2006

Aceptado para publicación: 22-05-2006

La Organización Mundial de la Salud define la epilepsia como: “Crisis cerebral consecuencia de una descarga neuronal excesiva” (1). Según la Comisión de Epidemiología y Pronóstico de la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE): “Manifestación clínica presumiblemente originada por una descarga excesiva de neuronas a nivel cerebral. Ésta consiste en fenómenos anormales bruscos y transitorios que incluye alteraciones de la conciencia, motora, sensorial, autonómica, psicológica, que son percibidos por el paciente o un observador” (1).

La prevalencia de epilepsia oscila entre 5 y 10 casos por 1.000 personas, y la incidencia es de aproximadamente 50 casos por 100.000 personas en países desarrollados (2); en países en vía de desarrollo la prevalencia es de 17 por 1000 habitantes; en Ecuador y en Venezuela, 16 por 1000; en Perú, 12 por 1000; y en Nigeria, 37 por 1000 (2). En Colombia la prevalencia es de 10.8 por 1000 (2).

La clasificación más utilizada y aceptada en todo el mundo para la epilepsia es la que se hizo en Kyoto (Japón) basada en criterios clínicos, que distingue la epilepsia según sus crisis focales o generalizadas (2). Las crisis de tipo focal tienen una mayor frecuencia (53–57%), seguida de las de tipo generalizado (32–40,3%). Un grupo de crisis que no pueden ser clasificados llegan hasta el 3% (3).

Según la clasificación de los síndromes epilépticos y las epilepsias de la liga internacional contra la epilepsia, el control farmacológico de las crisis parciales sintomáticas y criptogénicas pueden llegar a ser libres de crisis en un 35% y 45% respectivamente, siendo el 50% difícil de controlar con tratamiento farmacológico (se necesita terapia combinada). En el caso de la esclerosis hipocámpal, el 11% de los pacientes están libres de crisis, siendo el 75% de estas difíciles de controlar (4). La calidad de vida de los pacientes que sufren de epilepsia se ve marcadamente alterada, tanto desde su estado físico como mental y emocional, hasta su vida social y vitalidad; principalmente en aquellos en los cuales el control de las crisis es por debajo del 75% (5).

La importancia de factores genéticos en la presentación de resistencia al tratamiento de la epilepsia se da en este momento por la identificación de proteínas, y sus respectivos genes codificadores, involucradas en este proceso. Investigaciones recientes, han dado a conocer las características de estas proteínas,

constitutivas de la membrana celular del endotelio capilar de la Barrera Hematoencefálica (BHE) y de los pies astrocíticos que la forman (cuya expresión aumenta en el estado epiléptico), además de estar presentes en otros sitios del sistema nervioso central (SNC) y otros tejidos no nerviosos, como el hepático, renal, intestinal y en la barrera hemato-testicular (6).

La BHE, como es bien conocido, ejerce un papel importante en la neuroprotección, por lo mismo, no permite fácilmente la entrada de compuestos hidrofílicos, polares o compuestos unidos a proteínas; por lo tanto, los fármacos que tienen la finalidad de ejercer sus efectos a nivel neuronal, han sido elaborados con características lipofílicas, que les permiten el acceso al SNC. Pero no es sólo la composición lipídica de las membranas de las células que conforman la BHE la que permite o no la difusión de ciertas sustancias a través de la misma, sino que, también, juegan un papel importante las proteínas (transportadores) que se expresan en dichas membranas. Con respecto a estas proteínas, se han encontrado transportadores de múltiples fármacos, pertenecientes a la familia de proteínas ABC (ATP-Binding Cassette), tales como la P- Glucoproteína (PGP) y la proteína asociada a la resistencia de fármacos (multidrug resistance-associated protein –MRP₁₋₇), presentes en la BHE y encargadas del transporte de sustancias hacia el exterior celular (6), posiblemente como un mecanismo activo de defensa para limitar la acumulación de varios medicamentos lipofílicos. El papel de las MRPs en la permeabilidad de la BHE ha sido demostrado experimentalmente, en los cuales fueron usados inhibidores de estos transportadores, como el probenecide o MK- 571, los cuales mejoraron el acceso de los fármacos o disminuyeron la salida de los mismos de células endoteliales cerebrales aisladas (6). Los fármacos sustrato de estas proteínas son los que tienen un peso molecular de cerca de 400 Da (6), lo que explica que dichas sustancias entren al cerebro de una manera menos eficientemente de lo esperado por su solubilidad lipídica, debido al ejercicio de la función de los transportadores, además la especificidad de estos por cada sustrato se superpone, o sea que hay fármacos que pueden ser acarreados por ambas proteínas (PGPs y MRPs).

Se ha encontrado que estas proteínas (PGPs) son codificadas por una pequeña familia de genes, los MDR1, involucrados en la farmacorresistencia. Tisheler et al (1995) fueron los primeros en reportar que la expresión de MDR1 en el cerebro está incrementada

de manera marcada en los pacientes con epilepsia farmacológicamente intratable. El mRNA del MDR1 fue identificado con RTCR (reverse transcription polymerase chain reaction) en tejidos resecados de pacientes tratados quirúrgicamente (resistentes al tratamiento farmacológico) y comparados con tejido control. También se ha reportado (Sisodiya et al en 1999) la sobreexpresión de PGP en las células de la glia en muestras de pacientes con malformaciones del desarrollo cortical, las cuales están asociadas frecuentemente, con la epilepsia resistente al tratamiento con fármacos. Posteriormente, los mismos investigadores encontraron sobreexpresión de MPR1 en neuronas displásicas, glia y vasos sanguíneos circundantes, en tejido cerebral epileptogénico resecado de pacientes con displasia cortical focal (otra malformación cortical, causa importante de la epilepsia farmacorresistente). Sisodiya et al (2002) propusieron que la sobreexpresión de estos transportadores disminuye la concentración celular de medicamentos antiepilépticos y por lo tanto causan la resistencia al tratamiento (6).

Después de estudios más minuciosos en cuanto a la especificidad para el transporte de diferentes sustancias, se ha observado que estas proteínas presentan diferente comportamiento frente a los diferentes fármacos usados para el tratamiento de la epilepsia, por ejemplo, las PGP y las MRPs son transportadores específicos

de sustancias con características lipofílicas, sin embargo, se ha encontrado que el valproato (antiepiléptico de naturaleza hidrofílica) es llevado fuera del tejido nervioso por estos transportadores, al igual que el fenobarbital, el felbamato, la lamotrigina y la gabapentina (6), todos ellos de naturaleza lipofílica.

La expresión de los transportadores de fármacos mencionados es constitutiva, y no adquirida, además la sobreexpresión de los mismos no es restringida específicamente al cerebro, sino que puede darse también en otros tejidos como el intestino delgado, donde se cree que la PGP forma una barrera contra la absorción de medicamento en el lumen intestinal, y por lo tanto limitando su viabilidad oral (6).

Además de existir los transportadores de la familia ABC mencionados anteriormente (PGPs), que no explican completamente la resistencia al tratamiento de la epilepsia, se encontró (en el año 2005) la proteína RLIP76 (7), un transportador de especificidad múltiple (para fenitoína y carbamazepina) que no pertenece a dicha familia de proteínas ABC, aunque es ATP-dependiente (7). Esta proteína de 76 kDa esta codificada en el cromosoma 18p11.3 por un gen con 11 exones y 9 intrones (7), y se cree que está involucrada en la regulación de la plasticidad de la membrana, el movimiento y la endocitosis, además se identificó como mecanismo activo para la eliminación

Tabla 1. Genes que intervienen en la farmacorresistencia del tratamiento de la epilepsia.

Gen	Proteína	Expresión	Sobreexpresión
MDR-1	P-glicoproteína	<input type="checkbox"/> Endotelio capilar del cerebro <input type="checkbox"/> Astrocitos <input type="checkbox"/> Hígado <input type="checkbox"/> Riñón <input type="checkbox"/> Intestino	<input type="checkbox"/> Esclerosis hipocampal <input type="checkbox"/> Displasia cortical <input type="checkbox"/> Tumor neuroepitelial disembrionárico
Mrp	Proteína asociada a la multirresistencia (MRP1-7)	<input type="checkbox"/> Endotelio capilar del cerebro <input type="checkbox"/> Astrocitos <input type="checkbox"/> Células epiteliales BHE	
MVP	Major vault protein	<input type="checkbox"/> Endotelio capilar del cerebro	
BCRP	Proteína de resistencia en el cáncer de mama	<input type="checkbox"/> Mama	
RALBP-1	RLIP-76	<input type="checkbox"/> Mama <input type="checkbox"/> Corazón <input type="checkbox"/> Hígado <input type="checkbox"/> Eritrocitos <input type="checkbox"/> Intestino <input type="checkbox"/> Endotelio capilar del cerebro	Tejido epileptogénico

de conjugados electrófilos de glutatión (7), e incluso de los mismos sustratos de los PGP con mayor afinidad. Este transportador es ampliamente distribuido en el organismo, encontrándose en mama, corazón, hígado y eritrocitos, y en menor concentración en colon y cerebro, aunque se nota una concentración mucho mayor en el tejido nervioso epileptogénico, co-habitando con las PGP, pero con predominio, no del parénquima cerebral, sino del endotelio vascular (7).

En la tabla 1 se muestra una síntesis de las proteínas transportadoras de membrana asociadas con la resistencia al tratamiento farmacológico de la epilepsia.

Después de una comparación entre la función de las diferentes proteínas transportadoras mencionadas anteriormente se ha identificado la RLIP-76 como la responsable de la resistencia al tratamiento farmacológico, por su especificidad y ubicación. Ante el análisis de la expresión de estas proteínas en tejido epileptogénico, y periférico no nervioso, se puede ver la importancia de la identificación temprana de la resistencia al tratamiento de la epilepsia, con el fin de llevar a cabo un protocolo de tratamiento adecuado para cada paciente, según sus características individuales de respuesta al tratamiento.

Referencias bibliográficas

1. Dias, Juan José. Guías Clínicas 2002: Epilepsia. Disponible en internet: <<http://www.fisterra.com/guias2/PDF/Epilepsia.pdf>>
2. Uribe, Carlos. Las epilepsias—estado convulsivo (status epilepticus). En: URIBE, Carlos; ARANA, Abraham; y LORENZANA, Pablo. Fundamentos de Medicina: Neurología. Fondo Editorial CIB, Colombia 2003. p 306-328.
3. Medina, Carlos; Uscategui, Angélica. Dimensión del problema. En: MEDINA, Carlos. Epilepsia: Aspectos clínicos y psicosociales. Editorial médica internacional Ltda., Colombia 2004. p 41-42.
4. Semah et al. Is the underlying cause of epilepsy a major prognostic factor for recurrence? *Neurology*, 1998.
5. Malmgren et al. 1997
6. Löscher, Wolfgang; y Potschka, Heidrun. Perspectives in Pharmacology: Role of Multidrug Transporters in Pharmaco-resistance to Antiepileptic Drugs. *Perspectives in Pharmacology and experimental therapeutics*, 301 (1): 301:7–14, 2002. Disponible en internet: < <http://jpet.aspetjournals.org/cgi/reprint/301/1/7>>
7. Awasthi, Sanjay et al. RLIP76, a non-ABC transporter, and drug resistance in epilepsy. *BMC Neuroscience* 2005, 6:61. Disponible en internet: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2202/6/61>>
8. Lazarowski, A; Seveler, G; Taratuto, A; Massaro, M; y Rabinowicz, A. Tuberos sclerosis associated with MDR1 gene expression and drug resistant epilepsy. *Pediatr Neurol* 1999; 21: 7314.
9. Sisodiya, SM; Lin, WR; Squier, MV; y Thom M. Multi-drug resistance protein 1 in focal cortical dysplasia. *Lancet* 2001; 357: 423.
10. Tishler, DM; Weinberg, KI; Hinton, DR; Barbaro, N; Annett, GM; y Raffel, C. MDR1 gene expression in brain of patients with medically intractable epilepsy. *Epilepsia* 1995; 36: 16.
11. Melton, L. Cellular pump changes prospect of disease resistance. *Lancet* 2001; 357: 1186.
12. Sisodiya et al. Major vault protein, a marker of drug resistance, is up regulated in refractory epilepsy. *Epilepsia* 2003; 44:1388-1396.
13. Sisodiya, SM; Lin, WR; Harding, BN; Aquier, MV; y Tom M. Drug resistance epilepsy: expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy. *Brain* 2002; 125:22-31.
14. Schinkel, AH; Wagenaar, E; Mol, CA; y Van Deemter, L. P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs. *Journal of Clinical Investigation* 1996; 97:2517–2524.
15. Schinkel, A.H. et al. Normal viability and altered pharmacokinetics in mice lacking mdr1-type (drug-transporting) Pglycoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:4028–4033.
16. Potschka, H; y Löscher, W. In vivo evidence for P-glycoprotein-mediated transport of phenytoin at the blood-brain barrier of rats. *Epilepsia* 2001. 42:1231–1240.

17. Potschka, H; Fedrowitz, M; y Löscher, W. P-Glycoprotein and multidrug resistance-associated protein are involved in the regulation of extra cellular levels of the major antiepileptic drug carbamazepine in the brain. *Neuroreport* 2001; 12:3557–3560.
18. Dimitry, A.; y Varlamov. Metabolic consequences of a novel missense mutation of the mtDNA CO I gene. Oxford University Press. *Human Molecular Genetics*, 2002, (11)16. Disponible en internet: <<http://hmg.oxfordjournals.org/cgi/reprint/11/16/1797>>
19. Declèves et al. Functional expression of P-glycoprotein and multidrug resistance associated protein (Mrp1) in primary cultures of rat astrocytes. *Journal of Neuroscience* 2000; 60:594–601.
20. Hooijberg, JH et al. Antifolate resistance mediated by the multidrug resistance proteins MRP1 and MRP2. *Cancer Res* 1999; 59: 2532–2535.
21. Huai-Yun, H; Secretst, DT; Mark, KS; Carney, D; Brandquist, C; Elmquist, WF; y Miller, DW. Expression of multidrug resistance-associated protein (MRP) in brain microvessel endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 243:816–820.
22. Kerb, R; Hoffmeyer, S; y Brinkmann U. ABC drug transporters: hereditary polymorphisms and pharmacological impact in MDR1, MRP1 and MRP2. *Pharmacogenomics* 2001; 2:51–64.
23. Awasthi, Sanjay et al. Transport of glutathione conjugates and chemotherapeutic drugs by RLIP76 (RALBP1): a novel link between G-protein and tyrosine kinase signaling and drug resistance. *Journal of Cancer* 2003, 106:635-646.
24. Zhang, Y; Han, H; Elmquist, WF; y Miller, DW. Expression of various multidrug resistance-associated protein (MRP) homologues in brain micro vessel endothelial cells. *Brain Res.* 2000; 876:148–153.
25. Zhang, L; Ong, WY; y Lee, T. Induction of P-glycoprotein expression in astrocytes following intracerebroventricular kainate injections. *Exp Brain Res* 1999; 126:509–516.

