



11218

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

11

FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y
NUTRICION "SALVADOR ZUBIRAN"

MULTIRRESISTENCIA A DROGAS - I Y PURPURA
TROMBOCITOPENICA INMUNOLOGICA.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
ESPECIALISTA EN HEMATOLOGIA
P R E S E N T A :
RODRIGO RICARDO RUIZ SOTO

ASESOR: DR. XAVIER LOPEZ KARPOVITCH.



MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

FIRMAS

Alumno

Rodrigo R. Ruiz Soto.
Dr. Rodrigo R. Ruiz Soto

Asesor de Tesis

Xavier López Karpovitch
Dr. Xavier López Karpovitch

Dirección de Enseñanza

Luis F. Uscanga Domínguez
Dr. Luis F. Uscanga Domínguez



UBENVISION DE ESPECIALIZACIONES
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U. N. A. M.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Coordinación del curso de Hematología

Xavier López Karpovitch
Dr. Xavier López Karpovitch

Enviar a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Rodrigo R. Ruiz Soto
FECHA: 30/12/03
FIRMA: Ruiz Soto


INCMNSZ
INSTITUTO NACIONAL
DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION
"DR. SALVADOR ZUBIRAN"
DIRECCION DE ENSEÑANZA
México, D.F.

Para mi madre Isabel Soto.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Agradezco a Luis e Ivonne por la amistad y el apoyo de todos estos años.

A Gaby entre otras cosas, por ayudarme a redescubrir Paris.

A cada uno de los pacientes que depositaron su confianza en mi.

Y finalmente, gracias a todos los amigos que me mostraron su cariño y apoyo durante mi hospitalización.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Il faut regarder toute la vie avec des yeux d'enfants.

Henri Matisse

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

E

INDICE

▪ Introducción	1
▪ Planteamiento del problema	5
▪ Objetivos	5
▪ Hipótesis	5
▪ Pacientes y métodos	6
▪ Resultados	8
▪ Discusión	9
▪ Conclusión	10
▪ Tablas	11
▪ Imágenes	15
▪ Bibliografía	17

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

F

INTRODUCCION

La resistencia a drogas es un fenómeno que se conoce desde hace varios años, siendo en el campo de la oncología donde ha tomado mayor relevancia (1, 2). Uno de los diversos mecanismos descritos involucra a la expresión y a la actividad funcional aumentada de la molécula de membrana P-glicoproteína (P-gp), la cual es codificada por el gen MDR-1 (multiresistencia a drogas, siglas en inglés) (3-9). La P-gp tiene una localización transmembranal y un peso molecular de 170 a 180 kD, se expresa en diversas células y tejidos tales como la corteza adrenal, barrera hematoencefálica, intestino, hígado, epitelio tubular renal proximal, linfocitos y células hematopoyéticas pluripotenciales CD34+ (10-17). Fisiológicamente la P-gp funciona como un transportador o una bomba dependiente de energía de compuestos lipofílicos, la secreción hormonal, la detoxificación de productos bacterianos, la excreción de metabolitos y el transporte de drogas hidrofóbicas hacia el espacio extracelular (3, 5, 18). El fenotipo de multiresistencia a drogas se caracteriza por la expulsión de los compuestos a través de la P-gp (5, 19, 20), con la subsiguiente disminución de las concentraciones intracelulares de los fármacos y un decremento en su efecto farmacológico; dentro de los fármacos relacionados con la P-gp se encuentran antibióticos y antineoplásicos (alcaloides de la vinca y antraciclinas) y glucocorticoides (tabla 1) (21-23). Por otro lado, también se conocen agentes con dependencia moderada o nula a la P-gp e incluso algunos son capaces de inhibir su función (tabla 2), estos últimos se conocen también como

quimiosensibilizadores y actúan por medio de inhibición competitiva al ocupar sitios de unión a las drogas del grupo MDR-1 (Figura 1) (24).

La expresión del gen MDR-1 y la densidad de la proteína de membrana tanto en células normales como malignas se han estudiado por medio de la cuantificación del mRNA de la P-gp y con técnicas de inmunohistoquímica por medio de anticuerpos monoclonales y policlonales, métodos que tienen una baja sensibilidad y especificidad (25). Otra técnica usada es la medición de la extrusión de colorantes fluorescentes en células individuales lo que permite evaluar la actividad funcional de la P-gp e investigar los efectos de moduladores de esta actividad lo cual se ha realizado en células hematopoyéticas normales y células leucémicas (26-29).

La autoinmunidad es un fenómeno en el cual existe poca información sobre el papel de la P-gp, dado que la mayoría de las enfermedades autoinmunes requieren del uso de medicamentos anti-inflamatorios o inmunosupresores, un aumento en la función de P-gp en las células del sistema inmunológico puede estar asociado a una terapéutica ineficaz (24). También se ha reportado que en las enfermedades reumáticas el fenotipo MRD-1 puede estar relacionado con daño tisular (30, 31). En artritis reumatoide la función aumentada de P-gp se correlaciona con la respuesta al tratamiento (32) y en pacientes con lupus eritematoso generalizado (LEG), al compararlos con sujetos sanos, se les encontró con un mayor porcentaje de linfocitos con actividad funcional de P-gp (33).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La purpura trombocitopénica idiopática (PTI) fue descrita en 1951 por William Harrington al inducir trombocitopenia en voluntarios sanos tras la infusión de plasma de pacientes con PTI. La PTI es una enfermedad caracterizada por la presencia de anticuerpos autorreactivos dirigidos contra componentes plaquetarios (34) y posiblemente megacariocitos con la subsiguiente fagocitosis y destrucción de estas células, por lo que el una vez usado término "idiopático" fue propuesto a ser cambiado por el de "autoinmune" (35). El diagnóstico es primariamente de exclusión dado que los estudios clínicos actualmente en uso para la detección de anticuerpos asociados a las plaquetas no tienen ni la sensibilidad o la especificidad adecuadas para su uso clínico de rutina ³⁶. Clínicamente se presenta con trombocitopenia (confirmada por la revisión del frotis de sangre periférica) con un número normal o aumentado de megacariocitos en el análisis de la médula ósea y ausencia de esplenomegalia significativa (37). La PTI se considera primaria cuando la causa de la desregulación inmune no es clara si bien se la ha tratado de asociar con ciertos factores predisponentes para los cuales existe evidencia sin la contundencia necesaria tales como hipogamaglobulinemia, deficiencias en los componentes de las vías clásicas del complemento (C4 y C2), ciertos haplotipos del HLA (B8DR3), anormalidades de CD95, polimorfismos del receptor de Fc y probablemente otras fallas en los linfocitos "autoinmunes", así como, teorías sobre probables factores etiológicos como la exposición antigénica persistente, selección de ciertos genes de las cadenas pesadas en la producción de los anticuerpos y anomalías en la presentación antigénica (38). Es secundaria

cuando se asocia con la presencia de alguna enfermedad reumatológica, infecciones crónicas persistentes (virus de la inmunodeficiencia humana, virus de la hepatitis C y recientemente el *Helicobacter pylori*) , procesos linfoproliferativos, tumores sólidos, medicamentos y otros. La evolución clínica puede ser aguda o crónica, siendo el límite de 6 semanas para distinguir una de otra. Habitualmente la aguda es predominante de la población infantil y adultos jóvenes con una tendencia a la resolución espontánea o "autolimitada" mientras que en los adultos la cronicidad es habitual y con la necesidad de tratamiento para elevar la cuenta plaquetaria. El tratamiento inicial estándar en pacientes con cifra de plaquetas menores a 30,000 y/o signos clínicos de sangrado es la prednisona (1 mg /kg /día). La mayoría de los pacientes presentarán una o más recaídas que requerirán de tratamiento terapéutico adicional (esplenectomía y/o drogas inmunosupresoras) (39, 40). No se conoce la razón de la cronicidad de la enfermedad e inclusive se ha considerado al tratamiento como paliativo más que curativo (35).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Planteamiento del problema

Se desconoce la causa del comportamiento abigarrado de la PTI por lo que se han tratado de establecer diferentes teorías o mecanismos que expliquen el mismo. Dado que algunos de los medicamentos usados en el tratamiento de la PTI son modulados por la P-gp (corticoesteroides, ciclofosfamida y vincristina), la falla al tratamiento podría explicarse por un aumento en la función de la P-gp.

Objetivos

1. Estudiar la función de la P-gp en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con PTI y sujetos sanos (controles).
2. Determinar si existe correlación entre la función de la P-gp y la actividad de la enfermedad.

Hipótesis

1. La población de pacientes con PTI presenta un porcentaje mayor de linfocitos con expresión de la P-gp a diferencia de la población sana.
2. Los pacientes con PTI refractaria tienen un porcentaje mayor de linfocitos con expresión de la P-gp al compararlos con los demás grupos de pacientes.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Pacientes y Métodos

Sujetos.

El estudio incluyó treinta pacientes diagnosticados con PTI de acuerdo a la guías de tratamiento propuestas por la Sociedad Americana de Hematología (ASH, siglas en inglés) (39), 24 mujeres y seis hombres. Los pacientes fueron divididos en cuatro grupos de acuerdo a su evolución clínica al momento del estudio.

Respondedores. Aquellos pacientes que se encontraran en remisión (primera o subsiguiente) ya sea sin tratamiento o en vías de disminución del mismo. A la mayoría se les realizó esplenectomía.

Tratamiento dependientes. Aquellos pacientes que requirieran algún tipo de tratamiento inmunosupresor (corticoesteroides y/u otro) con el fin de mantener una cifra de plaquetas adecuada.

Refractarios. Pacientes que hubieran recibido tratamiento de acuerdo a lo recomendado (39) sin mejoría en la cuenta plaquetaria.

Enfermedad estable. Pacientes que se hubieran diagnosticado con la enfermedad y sin haber requerido tratamiento a lo largo de su evolución.

Veinticinco voluntarios sanos se incluyeron como controles.

Todos los sujetos fueron informados sobre los objetivos del estudio y dieron su consentimiento escrito.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Análisis de la función de la P-glicoproteína por medio de citometría de flujo.

Se aislaron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) por gradiente de centrifugación en Hystopaque (Sigma Chemical Co. St. Luis, MO) de 5 mL de sangre total anticoagulada con EDTA. Después de 2 lavados, las células fueron llevadas a una concentración de 1×10^5 células /mL en buffer salino fosfato. Cuarenta μ L conteniendo 400 μ M de daunorrubicina (DNR) (Sigma) —un sustrato fluorescente de la P-gp- fue agregado a 2×10^6 células. Las muestras fueron divididas en 2 alícuotas, una de ellas fue incubada por 30 minutos en hielo para la captación basal de DNR y la otra fue incubada a 37° C en baño de agua durante 30 minutos con el fin de permitir el flujo de la DNR. Los análisis fueron realizados inmediatamente en un citómetro de flujo FACScan (Becton Dickinson, San Jose, CA) usando el software CellQuest software. La localización del grupo de linfocitos se definió por ventaneo electrónico de acuerdo a las características de dispersión frontal y lateral. Además, para evitar diferencias en tamaño o granularidad entre las subpoblaciones linfocitarias, una ventana más estrecha se definió en medio de la primera ventana. La excitación se llevo a cabo a 488 nm por medio de un laser de iones de argón y la emisión fue detectada como una señal logarítmica a 575 nm. Los resultados fueron expresados como el porcentaje de linfocitos efluyentes de DNR (células de baja fluorescencia). Los valores normales se consideraron cuando el porcentaje de células efluyentes fue menor al 3% (Fig. 2).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Estadística

Los datos fueron analizados usando la prueba "U" de Mann Whitney. Los valores de p menores de 0.01 se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados

Las características individuales de los pacientes se muestran en la tabla 3. Trece pacientes se incluyeron en el grupo de respondedores al tratamiento, seis en los dependientes, nueve en los refractarios y dos en los de enfermedad estable. Los valores promedio del porcentaje de linfocitos con habilidad para exteriorizar la DNR se muestran en la tabla 4. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los cuatro grupos de pacientes con PTI. Al comparar a todos los pacientes como grupo contra los controles si hubo diferencia significativa ($p < 0.01$). Al analizar los grupos de acuerdo a la cuenta de plaquetas al momento del estudio, edad, sexo y tiempo de evolución de la PTI no se encontraron diferencias significativas. Tampoco hubo diferencia significativa al comparar a los pacientes entre esplenectomizados y no esplenectomizados, independientemente del grupo de tratamiento en el que se encontraban.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Discusión

La mayoría de los pacientes con PTI presentan con el paso del tiempo recaída de la enfermedad siendo desconocida la causa de este comportamiento. Al fenómeno de multiresistencia a drogas no se le ha dado relevancia fuera del estudio de las neoplasias, pero es un proceso latente en los tejidos y células normales del cuerpo. En pacientes con PTI sin importar su evolución clínica o tipo de respuesta al tratamiento, los linfocitos de sangre periférica presentan un porcentaje más alto de expresión de la P-gp que la población sana. En otras enfermedades autoinmunes (32, 33) se ha encontrado así mismo una actividad aumentada de la P-gp la cual se pudo correlacionar con la actividad de la enfermedad así como con la respuesta al tratamiento, inclusive existen reportes en los cuales el administrar un bloqueador de la proteína MRD o la P-gp (verapamil a dosis bajas) se pudo disminuir e inclusive retirar exitosamente el tratamiento inmunosupresor en pacientes con LEG (24). Desafortunadamente en PTI no se pudo encontrar una diferencia significativa entre los cuatro grupos clínicos establecidos, si bien existió una tendencia hacia valores más altos de la expresión de la P-gp en los pacientes refractarios al tratamiento no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa, seguramente influye el tamaño de la muestra debido a que la incidencia de pacientes con PTI refractarios es menor que el de los dependientes de tratamiento o aún que los respondedores. Otro aspecto a tomar en cuenta es la hiperfuncionalidad de la P-gp, en algunos pacientes puede relacionarse con una función detoxificadora de la proteína debido a los largos periodos de tratamiento a los que se sometieron los

pacientes, sin embargo existen pacientes en quienes se hubo suspendido cualquier tipo de tratamiento varios meses o inclusive años pero con niveles altos de la P-gp. Esto último nos puede hacer suponer que la multiresistencia a drogas es un proceso inherente a la enfermedad si bien todavía es temprano para establecer un papel determinante en la respuesta al tratamiento. Se sabe que posterior a la esplenectomía la concentración sérica de anticuerpos antiplaquetarios disminuye (41, 42) por lo que se ha propuesto al bazo como el principal sitio de producción de los anticuerpos (35); en base a lo anterior resultaría interesante cuantificar la actividad de la P-gp en el tejido esplénico después de que se ha removido, de confirmarse un aumento en la proteína MRD podría pensarse en el bloquo farmacológico de la actividad de la misma con fines de preservación del bazo y por consiguiente la disminución en el riesgo de las complicaciones asociadas a su ausencia.

Conclusión

La multiresistencia a drogas es un fenómeno a tomar en cuenta en la patogénesis de la PTI, uno de los muchos responsables de la heterogeneidad clínica de los pacientes afectados si bien es necesario profundizar el conocimiento en este campo, pero abre la posibilidad de realizar en el futuro ensayos clínicos fase I con bloqueadores de la función de la P-gp (ciclosporina A) en pacientes refractarios y con un fenotipo MDR-1.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1. Fármacos del grupo MDR-1.

Antineoplásicos

Alcaloides de la vinca
Antraciclinas
Epipodofilotoxinas
Metotrexate
Ciclofosfamida

Antibióticos

Actinomicina D

Citotóxicos

Colchicina
Vinblastina

Otros

Glucocorticoides
Bromuro de etidio

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 2. Quimiosensibilizadores.

Calcioantagonistas	Antibióticos	Antagonistas de calmodulina
Verapamil Nifedipina	Eritromicina Cefalosporinas	Trifluoperacina Procloroperacina
Análogos de alcaloides de vinca	Antidepresivos	Antipsicóticos
Vindolina Tialiblastina	Tioperidona	Fenotiacinas
Hormonas	Inmunosupresores	Misceláneos
Progesterona Acetato de Megestrol Rapamicina	Ciclosporina A FK 506	Quinidina Reserpina Amiodarona Metadona

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 3. Características de pacientes con PTI.

Pacientes	Sexo	Edad (años)	Tratamiento al momento del estudio §	Plaquetas ($\times 10^3/\text{mm}^3$) §	Duración de la enfermedad	Estado clínico
1	M	27	Ninguno	443	2 a	Respondedor *
2	H	34	Disminución de PDN.	159	6 a	Respondedor *
3	H	47	Ninguno	247	5 a	Respondedor *
4	M	66	Disminución de PDN y DNZ	114	3 a.	Respondedor *
5	M	19	PDN, AZA	166	2 m	Respondedor *
6	H	26	Ninguno	429	6 m	Respondedor
7	M	17	Disminución de PDN	239	5 m	Respondedor *
8	M	33	Disminución de PDN.	143	6 m	Respondedor *
9	H	52	Disminución de DNZ.	286	2 a	Respondedor
10	M	30	Ninguno	86	28 a	Respondedor *
11	M	19	PDN y 6MP.	161	7 m	Respondedor *
12	H	30	Ninguno	456	11 a y 5 m	Respondedor *
13	M	62	Ninguno	119	8 m	Respondedor *
14	M	36	Disminución de PDN.	152	2 a	Respondedor
15	M	45	PDN	13	1 a	Dependiente *
16	M	19	PDN y DNZ	206	3 a	Dependiente
17	M	37	PDN, DNZ y AZA	25	8 a	Dependiente *
18	M	47	PDN y VCR	104	2 a y 5 m	Dependiente *
19	M	40	PDN y 6MP	103	6 m	Dependiente *
20	M	33	PDN, DNZ y 6MP.	6	1 a	Refractario *
21	M	58	PDN, 6MP, CFM y DNZ	17	2 a y 8 m	Refractario *
22	M	63	PDN, 6MP, VCR y Rhogam.	17	16 a	Refractario *
23	M	55	PDN, CyA, AZA, DNZ, VCR e IVIg	7	2 m	Refractario *
24	M	18	PDN, AZA, DNZ, CyA e IVIg	8	1 a	Refractario *
25	M	21	PDN e IVIg	7	1 m	Refractario
26	M	42	PDN, AZA, IVIg y Rhogam.	2	1 mo	Refractario *
27	H	73	PDN, MTP y VCR.	2	15 d	Refractario
28	M	65	PDN, MTP y DNZ	5	1 a	Refractario
29	M	29	Erradicación de <i>H. pylori</i> .	124	6 m.	Estable ¥
30	M	73	Ninguno	102	6 a y 6 m.	Estable ¢

§ PDN=Prednisona, DNZ=Danazol, AZA=Azatioprina, VCR=Vincristina, 6MP=6 mercaptopurina, IVIg=Inmunoglobulina, CyA=Ciclosporina A y

MTP=Metilprednisolona 3g.

* Esplenectomizado.

§ Cuenta plaquetaria al momento de la medición de la P-gp.

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

Tabla 4. Porcentaje de la P-gp.

Grupos de pacientes	N	Porcentaje de linfocitos DNR fluyentes. °
Respondedores	13	8.62 (0.35-36) °
Tratamiento dependientes	6	7.21 (2.95-15.06) °
Refractarios	9	24.63 (1.98-60.20) °
Enfermedad estable	2	5.29 (2.38-8.20) °
Grupo PTI	30	12.33 (0.35-60.20) °
Sujetos control	25	0.7 (0.05-1.98)

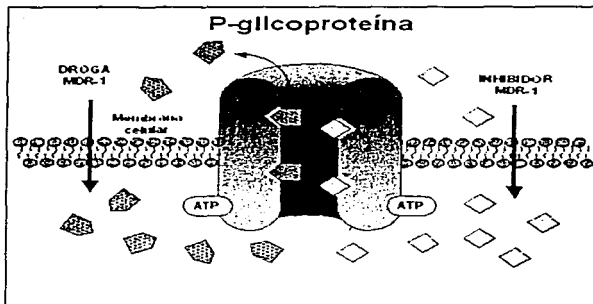
° Promedio (oscilación).

• $p < 0.01$. Comparado con sujetos control.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

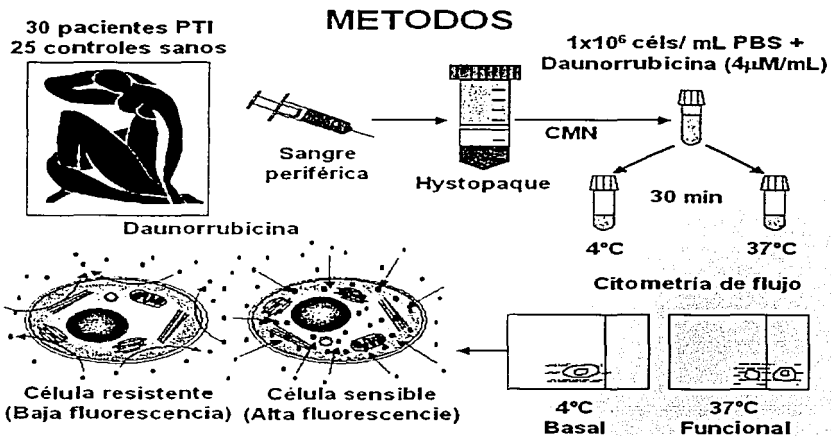
ESTA TESIS HA SALIDO
DE LA BIBLIOTECA

Figura 1.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 2.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFIA.

1. Chan HS, DeBoer G, Thorner PS, Haddad G, Gallie BL, Ling V. Multidrug resistance. Clinical opportunities in diagnosis and circumvention. *Hematol Oncol Clin North Am* 1994; 8:383-410.
2. Arceci RJ. Can multidrug resistance mechanisms be modified? *Br J Haematol* 2000; 110:285-91.
3. Cole SP, Bhardwaj G, Gerlach JH, et al. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science* 1992; 258:1650-4.
4. Foote SJ, Thompson JK, Cowman AF, Kemp DJ. Amplification of the multidrug resistance gene in some chloroquine-resistant isolates of *P. falciparum*. *Cell* 1989; 57:921-30.
5. Gerlach JH, Endicott JA, Juranka PF, et al. Homology between P-glycoprotein and a bacterial haemolysin transport protein suggests a model for multidrug resistance. *Nature* 1986; 324:485-9.
6. Juranka PF, Zastawny RL, Ling V. P-glycoprotein: multidrug-resistance and a superfamily of membrane-associated transport proteins. *Faseb J* 1989; 3:2583-92.
7. McGrath JP, Varshavsky A. The yeast STE6 gene encodes a homologue of the mammalian multidrug resistance P-glycoprotein. *Nature* 1989; 340:400-4.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

8. Rommens JM, Dho S, Bear CE, et al. cAMP-inducible chloride conductance in mouse fibroblast lines stably expressing the human cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88:7500-4.
9. Wilson CM, Serrano AE, Wasley A, Bogenschutz MP, Shankar AH, Wirth DF. Amplification of a gene related to mammalian *mdr* genes in drug-resistant *Plasmodium falciparum*. *Science* 1989; 244:1184-6.
10. Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Casals D, et al. Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86:695-8.
11. Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Boccia J, Casals D, Bertino JR, Melamed MR. Expression of the multidrug resistance gene product (P-glycoprotein) in human normal and tumor tissues. *J Histochem Cytochem* 1990; 38:1277-87.
12. Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ, Poplack DG, Gottesman MM, Pastan I. Expression of a multidrug-resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Vol. 84, 1987:265-9.
13. Chen CJ, Chin JE, Ueda K, et al. Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in the *mdr1* (P-glycoprotein) gene from multidrug-resistant human cells. *Cell* 1986; 47:381-9.
14. Georges E, Bradley G, Gariepy J, Ling V. Detection of P-glycoprotein isoforms by gene-specific monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87:152-6.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

15. Damiani D, Michieli M, Michelutti A, et al. Expression of multidrug resistance gene (MDR-1) in human normal leukocytes. *Haematologica* 1993; 78:12-7.
16. Weinstein RS, Kuszak JR, Kluskens LF, Coon JS. P-glycoproteins in pathology: the multidrug resistance gene family in humans. *Hum Pathol* 1990; 21:34-48.
17. Willingham MC, Richert ND, Cornwell MM, et al. Immunocytochemical localization of P170 at the plasma membrane of multidrug-resistant human cells. *J Histochem Cytochem* 1987; 35:1451-6.
18. Gros P, Croop J, Housman D. Mammalian multidrug resistance gene: complete cDNA sequence indicates strong homology to bacterial transport proteins. *Cell* 1986; 47:371-80.
19. Deeley RG, Cole SP. Function, evolution and structure of multidrug resistance protein (MRP). *Semin Cancer Biol* 1997; 8:193-204.
20. Ling V. Multidrug resistance: molecular mechanisms and clinical relevance. *Cancer Chemother Pharmacol* 1997; 40:S3-8.
21. Tsuruo T. Reversal of acquired resistance to vinca alkaloids and anthracycline antibiotics. *Cancer Treat Rep* 1983; 67:889-94.
22. Ueda K, Cardarelli C, Gottesman MM, Pastan I. Expression of a full-length cDNA for the human "MDR1" gene confers resistance to colchicine, doxorubicin, and vinblastine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84:3004-8.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

23. Bourgeois S, Gruol DJ, Newby RF, Rajah FM. Expression of an mdr gene is associated with a new form of resistance to dexamethasone-induced apoptosis. *Mol Endocrinol* 1993; 7:840-51.
24. Llorente L, Richaud-Patin Y, Jakez-Ocampo J. [Multidrug resistance: a century after "606"]. *Rev Invest Clin* 2001; 53:444-51.
25. Fisher GA, Sikic BI. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995; 9:xi-xii.
26. Cornwell MM, Pastan I, Gottesman MM. Certain calcium channel blockers bind specifically to multidrug-resistant human KB carcinoma membrane vesicles and inhibit drug binding to P-glycoprotein. *J Biol Chem* 1987; 262:2166-70.
27. Safa AR, Glover CJ, Sewell JL, Meyers MB, Biedler JL, Felsted RL. Identification of the multidrug resistance-related membrane glycoprotein as an acceptor for calcium channel blockers. *J Biol Chem* 1987; 262:7884-8.
28. Safa AR. Photoaffinity labeling of the multidrug-resistance-related P-glycoprotein with photoactive analogs of verapamil. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85:7187-91.
29. Huard TK. Clinical useful nontraditional applications of flow cytometry. In: Keren DF, Hanson CA, Hurtubise PE, eds. *Flow cytometry in clinical diagnosis*: ASCP Press, 1984:396-403.

30. Salmon SE, Dalton WS. Relevance of multidrug resistance to rheumatoid arthritis: development of a new therapeutic hypothesis. *J Rheumatol Suppl* 1996; 44:97-101.
31. Jorgensen C, Maillfert JF. Multidrug resistances genes in rheumatology. Is their role immunological or pharmacological? *Joint Bone Spine* 2000; 67:8-10.
32. Llorente L, Richaud-Patin Y, Diaz-Borjon A, et al. Multidrug resistance-1 (MDR-1) in rheumatic autoimmune disorders. Part I: Increased P-glycoprotein activity in lymphocytes from rheumatoid arthritis patients might influence disease outcome. *Joint Bone Spine* 2000; 67:30-9.
33. Diaz-Borjon A, Richaud-Patin Y, Alvarado de la Barrera C, Jakez-Ocampo J, Ruiz-Arguelles A, Llorente L. Multidrug resistance-1 (MDR-1) in rheumatic autoimmune disorders. Part II: Increased P-glycoprotein activity in lymphocytes from systemic lupus erythematosus patients might affect steroid requirements for disease control. *Joint Bone Spine* 2000; 67:40-8.
34. McMillan R. Autoantibodies and autoantigens in chronic immune thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* 2000; 37:239-48.
35. Karpatkin S. Autoimmune (Idiopathic) thrombocytopenic purpura. *Lancet* 1997; 349:1531-6.
36. Romero-Guzman LT, Lopez-Karpovitch X, Paredes R, Barrales-Benitez O, Piedras J. Detection of platelet-associated immunoglobulins by flow cytometry for the diagnosis of immune thrombocytopenia: a prospective study and critical review. *Haematologica* 2000; 85:627-31.

37. Levine SP. Thrombocytopenia caused by immunologic platelet destruction. In: Lee RG FJ, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP and Rodger GM., ed. Wintrobe's Clinical Hematology. Vol. 2, 2000:1583-1611.
38. Bussel JB. II. Novel Approaches to Management of Immune Thrombocytopenic Purpura: Results of Recent Trials. In: ASH, ed. Hematology 2001. American Society of Hematology Education Program Book. Orlando, Florida, 2001:288-293.
39. George JN, Woolf SH, Raskob GE, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. Blood 1996; 88:3-40.
40. Cines DB, Blanchette VS. Immune thrombocytopenic purpura. N Engl J Med 2002; 346:995-1008.
41. Karpatkin S, Strick N, Karpatkin MB, Siskind GW. Cumulative experience in the detection of antiplatelet antibody in 234 patients with idiopathic thrombocytopenic purpura, systemic lupus erythematosus and other clinical disorders. Am J Med 1972; 52:776-85.
42. Dixon R, Rosse W, Ebbert L. Quantitative determination of antibody in idiopathic thrombocytopenic purpura. Correlation of serum and platelet-bound antibody with clinical response. N Engl J Med 1975; 292:230-6.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN