

NIVELES DE CITOQUINAS MEGACARIOCITOPOYETICAS EN PACIENTES CON TROMBOCITEMIA ESENCIAL Y SU RELACION CON CARACTERISTICAS CLINICAS Y BIOQUIMICAS

ROSANA F. MARTA, NORA P. GOETTE, FELISA C. MOLINAS

Sección Hematología Investigación, Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari,
Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Resumen La megacariocitopoyesis y la producción de plaquetas están regidas por factores de transcripción y citoquinas presentes en el microambiente medular. La trombocitemia esencial (TE) es una enfermedad mieloproliferativa crónica caracterizada por aumento del recuento de plaquetas e hiperplasia megacariocítica. En el presente trabajo se evaluaron los niveles de las citoquinas que participan en el desarrollo megacariocítico en plasma de pacientes con TE que se encontraban sin tratamiento y los de trombopoyetina (TPO) antes y durante el tratamiento con anagrelide. Las determinaciones se realizaron por técnica de ELISA. Dentro de las citoquinas involucradas en la etapa de proliferación, los niveles de interleuquina 3 (IL-3) se encontraron aumentados en los pacientes ($p=0.0383$) respecto al grupo control. Los niveles de factor estimulante de colonias granulocito-macrofágico y *stem cell factor* fueron normales. Dentro de las citoquinas con acción sobre la maduración megacariocítica, tanto la interleuquina 6 como la interleuquina 11 y la eritropoyetina estuvieron normales. Los niveles de TPO antes del tratamiento no difirieron del grupo control y durante el tratamiento aumentaron de manera no significativa. Los pacientes que presentaron agregación espontánea tuvieron niveles más altos de TPO que los que no lo hicieron ($p=0.049$). Los niveles de las citoquinas no tuvieron relación con ninguno de los parámetros clínicos ni de laboratorio evaluados. El aumento de los niveles de IL-3 podría contribuir al incremento en la proliferación megacariocítica en este grupo. La presencia simultánea de niveles más altos de TPO y trombocitosis sería un factor predisponente para la ocurrencia de agregación espontánea en los pacientes con TE.

Palabras clave: trombocitemia esencial, trombopoyetina, interleuquina 3, agregación espontánea

Abstract *Megakaryopoietic cytokine levels in patients with essential thrombocythemia and their relationship with clinical and biochemical features.* Megakaryopoiesis and platelet production are driven by transcription factors and cytokines present in bone marrow environment. Essential thrombocythemia (ET) is a chronic myeloproliferative disorder characterized by high platelet count and megakaryocytic hyperplasia. In the present work we evaluated plasmatic levels of cytokines involved in megakaryocytic development in a group of patients with ET that were not on treatment, as well as thrombopoietin (TPO) levels before and during anagrelide treatment. The assays were carried out using ELISA techniques. Among the cytokines mainly involved in proliferation of megakaryocytic progenitors, interleukin 3 (IL-3) levels were found increased in patients compared to normal controls ($p=0.0383$). Granulocyte-macrophage colony stimulating factor and stem cell factor levels were normal. Interleukin 6, as well as interleukin 11 and erythropoietin (EPO), cytokines mainly related to megakaryocytic maturation, were normal. Plasma TPO levels before treatment were within the normal range and increased during treatment but the difference was not statistically significant. Patients who displayed spontaneous platelet aggregation had higher plasma TPO levels compared to those who did not ($p=0.049$). We did not find any relationship between cytokine levels and clinical or laboratory parameters. The high IL-3 levels seen in some patients with ET could contribute to megakaryocytic proliferation. The simultaneous occurrence of higher TPO levels and elevated platelet count could be a predisposing factor for the development of spontaneous platelet aggregation in ET patients.

Key words: essential thrombocythemia, thrombopoietin, interleukin 3, spontaneous platelet aggregation

La producción de plaquetas es el evento final de una serie de múltiples procesos que se originan en una célula progenitora pluripotente y que se denomina megacariocitopoyesis. La regulación de la megacariocitopoyesis

está determinada por la presencia intracelular de factores de transcripción en las células progenitoras y por citoquinas presentes en el microambiente medular. Dentro de estas últimas, algunas están comprometidas con la proliferación de los progenitores megacariocíticos, como el factor estimulante de colonias granulocito-macrofágico (GM-CSF), la interleuquina 3 (IL-3) y el *stem cell factor* (SCF) mientras que otras estimulan la maduración, promueven la endomitosis y la adquisición de organelas plaquetarias, como la eritropoyetina (EPO), la

Recibido: 13-III-2006

Aceptado: 25-VII-2006

Dirección postal: Dra. Rosana F. Marta. Sección Hematología Investigación, Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Combates de Malvinas 3150, 1427 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11) 4523-8947 e-mail: rfmarta@ciudad.com.ar

interleuquina 6 (IL-6) y la interleuquina 11 (IL-11). Estas dos últimas citoquinas también tienen efecto sobre la etapa de proliferación¹. Sin embargo, la principal citoquina relacionada con el desarrollo megacariocítico fue descubierta en 1994 y se denominó trombopoyetina (TPO)². La TPO ejerce su acción estimulante a lo largo de todo el desarrollo, tanto en la etapa de proliferación de los precursores megacariocíticos como en la maduración, endomitosis y diferenciación citoplasmática que tiene lugar en las etapas finales de maduración³.

La trombocitemia esencial (TE), junto con la policitemia vera y la mielofibrosis con metaplasia mieloide, comprenden un grupo de enfermedades denominadas síndromes mieloproliferativos crónicos cromosoma Filadelfia negativos. Estas tres entidades comparten algunas características clínicas aunque difieren en su historia natural y en sus requerimientos terapéuticos⁴. Las características que definen a la TE son hiperplasia de megacariocitos y trombocitosis sostenida. Al no tener un marcador específico, el diagnóstico de esta patología debe realizarse por exclusión de las otras enfermedades mieloproliferativas, de trombocitosis reactiva y de mielodisplasia.

Aunque se ha asumido que la TE es una enfermedad clonal⁵, estudios recientes sugieren que existen casos de TE cuyo origen no es clonal, hecho que podría ser, por lo menos en parte, responsable de la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas observadas en estos pacientes^{6, 7}. La formación de colonias espontáneas *in vitro* de estirpe megacariocítica y eritroide es un hallazgo reiterado en pacientes con TE⁸⁻¹⁰. Se ha descrito que estas células progenitoras son hipersensibles a citoquinas como IL-3¹¹ y TPO^{12, 13}. Sin embargo, el rol de estas citoquinas en la patogenia de la enfermedad no ha podido definirse, ya que comunicaciones posteriores describen por un lado que los anticuerpos neutralizantes contra IL-3 no inhiben la formación de colonias megacariocíticas espontáneas¹⁴ y por otro que no existen alteraciones cualitativas del receptor de TPO (c-Mpl)^{15, 16}. En cambio, se observó una disminución en el número de receptores de trombopoyetina, c-Mpl, en megacario-citos y plaquetas de estos pacientes, alteración compartida también por pacientes con policitemia vera y mielofibrosis con metaplasia mieloide¹⁷.

Recientemente se ha descrito la presencia de una mutación puntual V617F en la tirosinquinasa JAK2 en pacientes con desórdenes mieloproliferativos crónicos. La mutación llevaría a la activación constitutiva de esta enzima, que participa en la vía de señalización de varias citoquinas megacariocitopoyéticas, otorgando a las células que la poseen una ventaja proliferativa frente a las que contienen la enzima normal. Sin embargo, estos hallazgos no aclaran la etiología de la trombocitemia esencial ya que el porcentaje de pacientes que presentan la mutación V617F varía entre 23 y 57%^{18, 20}.

Con el objeto de averiguar si la desregulación observada en la progenie megacariocítica se ve reflejada en cambios en los niveles de las citoquinas relacionadas a esta estirpe celular en sangre periférica, en el presente trabajo se evaluaron los niveles plasmáticos de citoquinas megacariocitopoyéticas en un grupo de pacientes con TE y su relación con datos clínicos y de laboratorio.

Materiales y métodos

Pacientes y muestras biológicas

Se estudiaron en forma retrospectiva 43 pacientes con TE que ingresaron consecutivamente a la Sección Hematología Investigación del Instituto Lanari (IDIM A. Lanari), y fueron diagnosticados de acuerdo a los criterios del *Polycythemia Vera Study Group* (PVSG). Los pacientes no habían recibido medicación que altere la función plaquetaria por lo menos 8 días antes de la extracción sanguínea. De los pacientes estudiados 8 habían recibido previamente hidroxiurea, 2 habían recibido interferón- α , un paciente había recibido interferón- α e hidroxiurea y otro anagrelide. Esta medicación fue suspendida por lo menos un mes antes de la toma de la muestra. Los 31 pacientes restantes no habían recibido medicación citorreductora alguna.

Se evaluó un grupo de individuos normales de características similares al de los pacientes en edad y sexo. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del IDIM A. Lanari y tanto los pacientes como los controles normales firmaron el consentimiento informado correspondiente.

Las muestras de sangre obtenidas por punción venosa se anticoagularon con citrato de sodio 129 mmol/l y se centrifugaron a 1500 x g durante 15 min para obtener el plasma pobre en plaquetas. Posteriormente se realizó una nueva centrifugación durante 10 min a 10000 x g para asegurar una exhaustiva depleción de plaquetas. Las muestras se fraccionaron y congelaron a -70 °C hasta su uso. Para la obtención del plasma rico en plaquetas (PRP), las muestras de sangre citratadas fueron centrifugadas a 240 x g durante 10 minutos.

Determinación de citoquinas

Las determinaciones de IL-6, IL-3, IL-11, SCF, GM-CSF, TPO y EPO se realizaron por la técnica de ELISA utilizando reactivos comerciales (*R&D Systems*, MN, EE.UU.). Brevemente, tanto las muestras a evaluar como la curva estándar fueron incubadas en distintos pocillos de la microplaca recubiertos con un anticuerpo dirigido contra la molécula a evaluar. Luego de la incubación y de los lavados correspondientes se incubó con un segundo anticuerpo dirigido contra otro epítipo del analito conjugado con peroxidasa. Finalmente se lavó e incubó la microplaca con un cromógeno, se detuvo la reacción por agregado de H₂SO₄ y se leyó la absorbancia a 450 nm contra filtro de 550 nm. Los límites de detección y los valores normales proporcionados por el fabricante fueron respectivamente: IL-6, 0.7 pg/ml y <12.5 pg/ml; IL-3, 7.4 pg/ml y <31.2 pg/ml; IL-11, 8 pg/ml y <31.2 pg/ml; GM-CSF 2.8 pg/ml y <7.8 pg/ml; SCF, 4 pg/ml y entre 1000 y 1790 pg/ml; TPO, 15 pg/ml y <62.5 pg/ml; EPO, 0.6 UI/ml y entre 3.1 y 16.6 UI/ml.

Estudio de agregación espontánea en PRP

La agregación espontánea se evaluó por método turbidimétrico utilizando un lumi-agregómetro (*Chrono-Log Corp.*, Havertown, PA, EE.UU.) con agitación constante a 600 rpm y a 37° C.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se informaron como mediana y rango. Para la comparación de los niveles de citoquinas entre el grupo de pacientes y los controles normales se utilizó el test de suma de rangos de Mann-Whitney-Wilcoxon. Para comparar los niveles en la misma población antes y durante el tratamiento se usó el test de rangos señalados de Wilcoxon. Se consideró estadísticamente significativa una p menor de 0.05.

Resultados

Niveles de citoquinas involucradas en la proliferación de progenitores megacariocíticos

Los niveles plasmáticos de IL-3 en los pacientes, 7.4 pg/ml (7.4-187), mediana y rango, estuvieron aumentados con respecto al grupo control de nuestro laboratorio, los cuales presentaron niveles menores o iguales que el límite de detección de la técnica, 7.4 pg/ml ($p = 0.0383$). De los 25 pacientes estudiados, 11 presentaron niveles de IL-3 superiores a 7.4 pg/ml, como se muestra en la Fig. 1a. Los niveles de GM-CSF fueron iguales o menores que el límite de detección de la técnica, 2.8 pg/ml,

tanto en los pacientes como en los controles normales evaluados. Los niveles plasmáticos de SCF evaluados en 20 pacientes fueron similares al del grupo control, 1465 pg/ml (714-2097) y 1114 pg/ml (769-1721), respectivamente, (Fig. 1b). Los niveles de las citoquinas en la población de pacientes se describen en la Tabla 1 incluyendo el número de pacientes evaluados para cada citoquina y la cantidad de pacientes que presentaron valores iguales o menores al límite de detección.

Niveles de citoquinas involucradas en la maduración de precursores megacariocíticos

Los niveles plasmáticos de IL-6 fueron normales en 20 pacientes evaluados, 0.79 pg/ml (0.7-4.39), en comparación con el grupo control, 1.15 pg/ml (0.7-4.69) Fig. 2a. Todos los pacientes excepto uno presentaron valores plasmáticos de IL-11 por debajo de 8 pg/ml, correspondiendo al límite de detección de la técnica usada. El único paciente con niveles medibles de IL-11 tuvo 85.5 pg/ml. No hubo diferencias en los niveles de EPO plasmáticos entre pacientes, 7.48 UI/ml (3.73-22.8) y controles, 6.1 UI/ml (1.9-19.49) (Fig. 2b, Tabla 1).

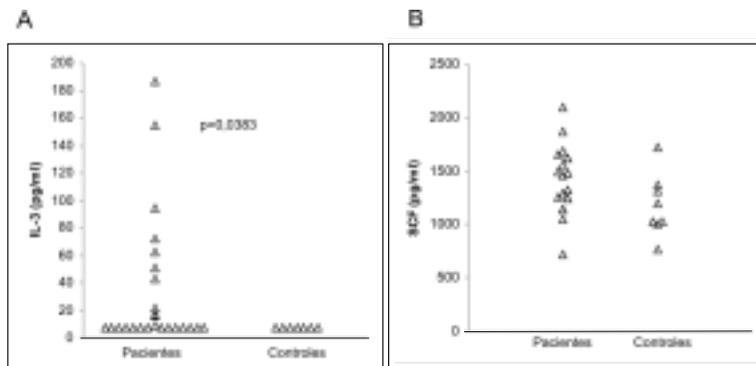


Fig. 1.- Niveles de IL-3 (A) y SCF (B) expresados en pg/ml en pacientes con TE sin tratamiento y en un grupo control.

TABLA 1.- Niveles de citoquinas en pacientes con TE

Citoquina	IL-6	IL-3	IL-11	GM-CSF	SCF	TPO	EPO
Unidades	pg/ml	pg/ml	pg/ml	pg/ml	pg/ml	pg/ml	UI/ml
N° total	21	25	15	17	17	15	10
N° dosables	11	11	2	0	17	11	10
Mediana	0.79	7.4	8	2.8	1465	26.4	7.48
Mínimo	0.7	7.4	8	—	714	15	3.73
Máximo	4.34	187	85.5	—	2097	152.8	22.8
Valor normal	<6	<7.4	<16.3	<2.8	598-1761	<56	<19

N° total, número total de pacientes estudiados; N° dosables, número de muestras en las que se obtuvo un valor mayor que el límite de detección; Mediana, mediana del total de los valores obtenidos; Mínimo y Máximo, valor inferior y superior respectivamente del total de las muestras evaluadas. Valor normal: media \pm 2DS obtenidos en un grupo de 12 individuos normales estudiados en el laboratorio.

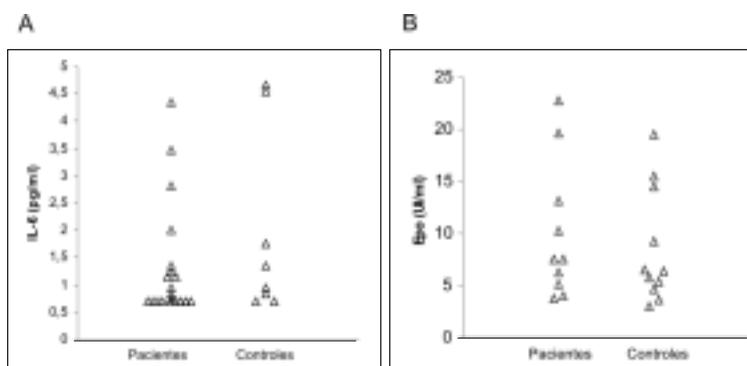


Fig. 2.— Niveles de IL-6 (A) expresados en pg/ml y EPO (B) expresados en UI/ml en pacientes con TE sin tratamiento y en un grupo control.

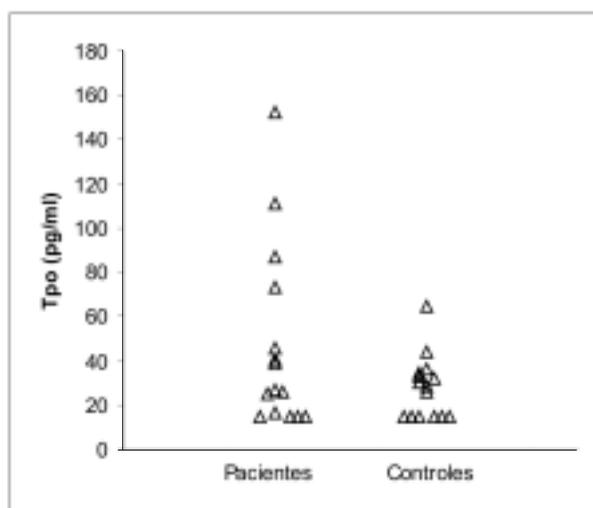


Fig. 3.— Niveles de TPO en pg/ml en pacientes con TE sin tratamiento y en un grupo control.

Niveles de TPO antes y durante el tratamiento con anagrelide

Los niveles de TPO en un grupo de pacientes sin tratamiento no difirieron significativamente del encontrado en el grupo control, 26.4 pg/ml (15-152.8) y 28.5 pg/ml (15-64.7), respectivamente, aunque 4 pacientes presentaron valores por encima del valor más alto registrado en los controles normales, (Fig. 3, Tabla 1). Con el objeto de determinar si la disminución del recuento plaquetario en los pacientes con TE producida por el tratamiento con anagrelide induce cambios en los niveles plasmáticos de TPO, se evaluaron los mismos en un grupo de 8 pacientes antes y durante el tratamiento, una vez alcanzada la normalización del recuento plaquetario. En este

grupo de pacientes el nivel de TPO antes del inicio del tratamiento fue 27.9 pg/ml (15-152.8). Se observó un aumento en los niveles plasmáticos de TPO durante la remisión hematológica que no alcanzó significación estadística, 48 pg/ml (15-120.3) (Fig. 4a). El recuento de plaquetas en este grupo fue de 1140×10^3 plaq/ul ($620-1400 \times 10^3$) antes y 372×10^3 plaq/ml ($240-480 \times 10^3$) durante el tratamiento, (Fig. 4b). Los niveles de TPO no se correlacionaron con los de las plaquetas ni antes ni durante el tratamiento.

Perfil clínico y de laboratorio y su relación con los niveles de citoquinas en TE

La población de pacientes con TE incluidos en el estudio presentó los siguientes características clínicas: 2 pacientes presentaron trombosis, 12 pacientes obstrucción de la microcirculación, 6 manifestaciones hemorrágicas, 3 tuvieron manifestaciones mixtas y 20 fueron asintomáticos. Once pacientes fueron estudiados al diagnóstico, 15 pacientes entre el segundo y el 12° mes de evolución y 17 entre el 13° y el 96° mes de evolución. La población estudiada presentó los siguientes datos hematimétricos al momento del estudio: recuento de glóbulos rojos, $4605 \times 10^3/\mu\text{l}$ (2900-6000), hematocrito, 40.5% (28-50), hemoglobina, 13.5 g/dl (8.6-17.3), recuento de plaquetas, $980 \times 10^3/\mu\text{l}$ (610-2030), recuento de glóbulos blancos, $8.96 \times 10^3/\mu\text{l}$ (3.4-15.9), porcentaje de las distintas subpoblaciones leucocitarias, neutrófilos 68% (43-77), eosinófilos 2% (0-10), basófilos 0% (0-3), linfocitos 27% (2-44), monocitos, 4% (1-9). Los niveles de IL-3, IL-6 y SCF no se correlacionaron con el recuento de glóbulos blancos totales ni con las distintas subpoblaciones leucocitarias. Los niveles de hematocrito, hemoglobina y el recuento de glóbulos rojos totales no se correlacionaron con el recuento de plaquetas no se correlacionó con el nivel de ninguna de las citoquinas medidas. No hubo diferencias en los niveles de citoquinas en los

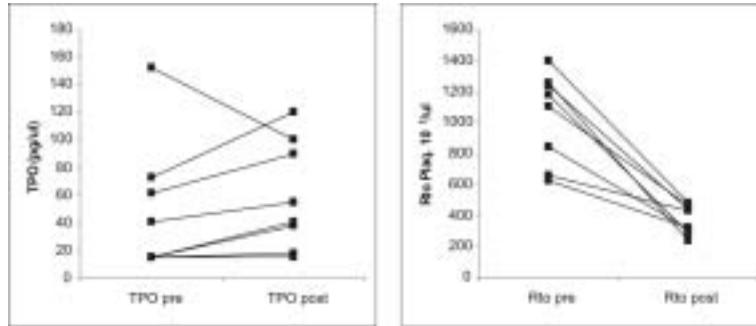


Fig. 4.— Niveles de TPO (A) expresados en pg/ml y recuento de plaquetas en sangre periférica (B) antes (pre) y durante (post) el tratamiento con anagrelide en pacientes con TE.

pacientes cuando se los agrupó según sus características clínicas. Tampoco se observaron diferencias en el tiempo de evolución entre los pacientes con niveles aumentados de citoquinas y aquellos con niveles normales (suma de rangos de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Dieciocho de 43 pacientes (42%) evaluados antes del inicio del tratamiento, presentaron agregación espontánea en el plasma rico en plaquetas sin diluir. Los pacientes que presentaron agregación espontánea tuvieron un nivel de TPO mayor que los que no la presentaron ($p=0.049$).

Discusión

Las citoquinas hematopoyéticas son factores determinantes para la proliferación de los progenitores medulares, para su diferenciación en cada una de las series leucocitarias y para su maduración. En el presente trabajo se evaluaron los niveles plasmáticos de citoquinas relacionadas con la proliferación y la diferenciación de megacariocitos en un grupo de pacientes con TE que no se encontraban bajo tratamiento, así como los niveles de TPO durante el tratamiento con anagrelide.

Los niveles de TPO se encontraron normales o ligeramente aumentados en los pacientes previamente al tratamiento, en concordancia con lo encontrado por otros autores^{21,23}. El metabolismo natural de TPO ocurre a través de la unión a su receptor c-Mpl. Por lo tanto, el nivel de TPO plasmático depende del número total de células que posean receptor c-Mpl, plaquetas y megacariocitos^{24,25}. Se ha descrito previamente que los niveles de c-Mpl se encuentran disminuidos en plaquetas de pacientes con TE¹⁷. Este hallazgo podría explicar por lo menos en parte por qué el nivel de TPO de los pacientes no se encuentra disminuido en concordancia con el aumento del número de plaquetas y megacariocitos. Aunque los valores de TPO medidos en un subgrupo de pacientes

durante el tratamiento no difirieron estadísticamente de los valores obtenidos antes del tratamiento, se observó una tendencia al aumento de TPO en el primer grupo. Esto indica que al corregir el número de plaquetas, lo que equivale a disminuir la cantidad total de células que poseen el receptor c-Mpl, el nivel de TPO aumenta, lo cual es esperable de acuerdo al mecanismo por el cual se clarifica la citoquina.

Ha sido descrito que la TPO potencia la activación plaquetaria inducida por otros agonistas²⁶. De particular interés resulta el hecho de que los pacientes sin tratamiento que presentaron agregación espontánea, tuvieron valores de TPO mayores que los que no la presentaron. Este hallazgo podría sugerir que los niveles más altos de TPO jugarían un rol en la activación plaquetaria en pacientes con TE, puesta de manifiesto en la aparición de agregación espontánea *ex vivo*. Sin embargo, durante la remisión hematológica, cuando el recuento plaquetario se encontraba dentro de límites normales y el nivel de TPO fue ligeramente superior, la agregación espontánea desapareció. Por lo tanto, parece evidente que la trombocitosis es decisiva en la aparición de agregación espontánea y que el nivel de TPO sería un factor adicional que favorecería la aparición de activación plaquetaria *ex vivo*.

El aumento plasmático de IL-3 en el 25% de los pacientes que se describe en el presente trabajo no ha sido reportado anteriormente. Esta característica no se reflejó en un comportamiento clínico particular ni se correlacionó con los niveles de las distintas subpoblaciones leucocitarias. Dado que la TE es una patología que agrupa pacientes con características biológicas y clínicas heterogéneas (por ejemplo clonalidad, presencia de mutaciones), el aumento de IL-3 podría estar relacionado con la etiología de la enfermedad en estos casos.

La mutación recientemente descrita JAK2V617F^{18,20} que induce activación constitutiva de la molécula, tiene relevancia fisiopatológica ya que el JAK2 participa en la

transducción de la señal intracelular de varias de las citoquinas involucradas en la megacariocitopoyesis como la TPO, EPO, IL-6 e IL-3. En 20 de los pacientes incluidos en el presente trabajo se investigó la presencia de dicha mutación en el RNA de plaquetas, encontrándose 3 homocigotas, 6 heterocigotas y 11 pacientes sin la mutación²⁷. No se encontró asociación alguna entre la aparición de la mutación y el nivel de IL-3, IL-6, SCF ni TPO. Debido a que hubo sólo 4 pacientes en los que se evaluó el nivel de EPO conjuntamente con la presencia de la mutación para JAK2, no se pudieron sacar conclusiones en cuanto a esta asociación. Estos resultados sugieren que una regulación negativa de la síntesis de citoquinas por la activación constitutiva de su correspondiente vía de transducción de señal no parece tener lugar en estos pacientes.

A diferencia de lo reportado por otros autores, que describieron que aproximadamente el 50% de los pacientes con TE tienen valores disminuidos de EPO circulante^{28, 29}, en los 10 pacientes evaluados en este estudio se encontraron valores semejantes a los del grupo control. Ya que el tratamiento citorreductor puede provocar disminución del recuento de glóbulos rojos con el consiguiente aumento del nivel de EPO circulante, se analizaron los datos de los pacientes en busca de un aumento de EPO en los que habían recibido tratamiento previo. Sin embargo, no se encontraron diferencias en los niveles de EPO entre los pacientes que no habían recibido tratamiento previo y los que sí lo hicieron. Otro de los factores que podrían influir en los niveles de EPO es la edad, ya que se ha descrito que el envejecimiento produce disminución del nivel circulante de esta citoquina³⁰. Dado que 7 de los 10 pacientes evaluados para EPO tenían entre 23 y 32 años (datos de los 10 pacientes, mediana 28, rango 23-66), constituyendo por lo tanto una población relativamente joven, esta podría ser una variable a tener en cuenta en el análisis de los inesperados valores obtenidos en esta serie.

En relación con la IL-6, el hallazgo de que todos los pacientes evaluados tuvieran niveles normales de esta citoquina refuerza el hecho de que la trombocitosis que presentaban no estaba asociada a un proceso inflamatorio sino a una enfermedad mieloproliferativa. Es interesante mencionar que en nuestro laboratorio se encontró aumento de los niveles plasmáticos del receptor soluble de IL-6 en pacientes con TE³¹. Cabe destacar que este receptor soluble ejerce un efecto agonista cuando se une a la IL-6, favoreciendo su acción en células que no poseen el receptor específico de IL-6 en la membrana. Por lo tanto, aunque los niveles de IL-6 son normales, el aumento de su receptor soluble podría inducir una mayor respuesta a esta citoquina en los pacientes con TE, contribuyendo así al mayor desarrollo de la serie megacariocítica.

Si bien los resultados presentados en este trabajo describen alteraciones que podrían tener relevancia fisiopatológica en la TE, estas observaciones deberían ser confirmadas en un estudio prospectivo que incluya a un número mayor de pacientes.

En conclusión, los hallazgos que se describen en el presente estudio, como el aumento de los niveles de IL-3 en un grupo de pacientes y las diferencias en el nivel de TPO entre los pacientes con y sin agregación espontánea, ayudan a conocer con más profundidad las alteraciones de la TE, una patología en la que las causas de la desregulación del linaje megacariocítico no han sido aún completamente aclaradas.

Bibliografía

1. Matsumura I, Kanakura Y. Molecular control of megakaryopoiesis and thrombopoiesis. *Int J Hematol* 2002; 75: 473-83.
2. Bartley TD, Bogenberger J, Hunt P, et al. Identification and cloning of a megakaryocyte growth and development factor that is a ligand for the cytokine receptor Mpl. *Cell* 1994; 77: 1117-24.
3. Wendling F. Thrombopoietin: its role from early hematopoiesis to platelet production. *Haematologica* 1999; 84: 158-66.
4. Tefferi A, Murphy S. Current opinion in essential thrombocythemia: pathogenesis, diagnosis, and management. *Blood Rev* 2001; 15: 121-31.
5. Fialkow P, Faguet G, Jacobson R, Vaidja K, Murphy S. Evidence that essential thrombocythemia is a clonal disorder with origin in a multipotent stem cell. *Blood* 1981; 58: 916-9.
6. El Kassab N, Hetet G, Briere J, Grandchamp B. Clonality analysis of hematopoiesis in essential thrombocythemia: advantages of studying T-lymphocytes and platelets. *Blood* 1997; 89: 128-34.
7. Harrison C, Gale R, Machin S, Linch D. A large proportion of patients with a diagnosis of essential thrombocythemia do not have a clonal disorder and may be at lower risk of thrombotic complications. *Blood* 1999; 93: 417-24.
8. Rolovic Z, Basara N, Gotic M, Seher D, Bogdanovic A. The determination of spontaneous megakaryocyte colony formation is an unequivocal test for discrimination between essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. *Br J Haematol* 1995; 90: 326-31.
9. Kralovics R, Buser A, Teo S, et al. Comparison of molecular markers in a cohort of patients with chronic myeloproliferative disorders. *Blood* 2003; 102: 1869-71.
10. Dobo I, Boiret N, Lippert E, et al. A standardized endogenous megakaryocytic erythroid colony assay for the diagnosis of essential thrombocythemia. *Haematologica* 2004; 89: 1207-12.
11. Kobayashi S, Teramura M, Hoshino S, Motoji T, Oshimi K, Mizoguchi H. Circulating megakaryocyte progenitors in myeloproliferative disorders are hypersensitive to interleukin-3. *Br J Haematol* 1993; 83: 539-44.
12. Axelrad A, Eskinazi D, Correa P, Amato D. Hypersensitivity of circulating progenitor cells to megakaryocyte growth and development factor (PEG-rHu MGDF) in essential thrombocythemia. *Blood* 2000; 96: 3310-21.
13. Kawasaki H, Nakano T, Kohdera U, Kobayashi Y. Hyper-

- sensitivity of megakaryocyte progenitors to thrombopoietin in essential thrombocythemia. *Am J Hematol* 2001; 68: 194-7.
14. Li Y, Hetet G, Maurer A, Chait Y, Dhermy D, Briere J. Spontaneous megakaryocyte colony formation in myeloproliferative disorders is not neutralizable by antibodies against IL-3, IL-6 and GM-CSF. *Br J Haematol* 1994; 87: 471-6.
 15. Taksin A, Le Couedic J, Dusanter-Fourt I, et al. Autonomous megakaryocyte growth in essential thrombocythemia and idiopathic myelofibrosis is not related to a c-Mpl mutation or to an autocrine stimulation by Mpl-L. *Blood* 1999; 93: 125-39.
 16. Kiladjian I, Elkassar N, Hetet G, Briere J, Grandchamp B, Gardin C. Study of the thrombopoietin receptor in essential thrombocythemia. *Leukemia* 1997; 11: 1821-6.
 17. Horikawa Y, Matsumura I, Hashimoto K, et al. Markedly reduced expression of platelet c-Mpl receptor in essential thrombocythemia. *Blood* 1997; 90: 4031-8.
 18. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005; 365: 1054-61.
 19. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005; 352: 1779-90.
 20. James C, Ugo V, Le Couedic J, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005; 434: 1144-8.
 21. Cerutti A, Custodi P, Duranti M, Noris P, Balduini C. Thrombopoietin levels in patients with primary and reactive thrombocytosis. *Br J Haematol* 1997; 99: 281-4.
 22. Tahara T, Usuki K, Sato H, et al. A sensitive sandwich ELISA for measuring thrombopoietin in human serum: serum thrombopoietin levels in healthy volunteers and in patients with haemopoietic disorders. *Br J Haematol* 1996; 93: 783-8.
 23. Andreasson B, Lindstedt G, Stockelberg D, Wadenvik H, Kutti J. The relation between plasma thrombopoietin and erythropoietin concentrations in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Leuk Lymphoma* 2001; 41: 579-84.
 24. Fielder P, Gurney A, Stefanich E, et al. Regulation of thrombopoietin levels by c-Mpl-mediated binding to platelets. *Blood* 1996; 87: 2154-61.
 25. Rathke G, Jaschonek K, Brugger W, Kanz I. Human plasma thrombopoietin levels are regulated by binding to platelet thrombopoietin receptors in vivo. *Transfusion* 2002; 42: 321-7.
 26. Rodríguez-Liñares B, Watson S. Thrombopoietin potentiates activation of human platelets in association with JAK2 and TYK2 phosphorylation. *Biochem J* 1996; 316: 93-8.
 27. Heller PG, Lev PR, Salim JP, et al. JAK2 mutation in platelets from essential thrombocythemia patients: correlation with clinical features and analysis of SATAT5 phosphorylation status. *Eur J Haematol*, en prensa.
 28. Carneskog J, Kutti J, Wadenvik H, Lundberg P-A, Lindstedt G. Plasma erythropoietin by high-detectability immunoradiometric assay in untreated and treated patients with polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Eur J Haematol* 1998; 60: 278-82.
 29. Andreasson B, Lindstedt G, Kutti J. Plasma erythropoietin in essential thrombocythemia: at diagnosis and in response to myelosuppressive treatment. *Leuk Lymphoma* 2000; 38: 113-20.
 30. Pasqualetti P, Casale R. No influence of aging on the circadian rhythm of erythropoietin in healthy subjects. *Gerontology* 1997; 43: 206-9.
 31. Marta R, Goette N, Lev P, et al. Increased soluble Interleukin-6 soluble receptor in patients with Essential thrombocythemia. *Haematologica* 2004; 89: 657-63.

Pero, ¿es preciso que exista esa meta? ¿No podemos explicar tanto la existencia de la ciencia como su éxito en términos de evolución a partir del estado de conocimientos de una comunidad en un momento dado? ¿Ayuda realmente el imaginar que existe alguna explicación plena, objetiva y verdadera de la naturaleza y que la medida apropiada de la investigación científica es la elongación con que nos acerca cada vez más a esa meta final? Si podemos aprender a sustituir la-evolución-hacia-lo-que-deseamos-conocer por la-evolución-a-partir-de-lo-que-conocemos, muchos problemas difíciles desaparecerán en el proceso [...]

Thomas S. Kuhn (1922-1996)

La estructura de las revoluciones científicas. Capítulo XIII. Progreso a través de las revoluciones. México DF: Fondo de Cultura Económica, 1971. Traducción castellana de Agustín Contín de *The Structure of Scientific Revolutions*, Chicago: Chicago University Press, 1971, p 263