Trombopoietina

Aprendiendo a Manipular a las Plaquetas

Dr. Martha C. Sola

Division de Neonatologia, Departamento de Pediatria
Universidad de la Florida
Gainesville, Fla. USA.

Abstracto

La trombopoietina es el regulador fisiológico de la producción plaqueteria recientemente descubierto: Desde su clonaje y purificación en 1994, múltiples estudios *in vitro* han demostrado que la trombopoietina es un estimulador potente de todos los estadios de la trombopoyesis, y que juega un rol importante en la activación plaquetaria. *In vivo,* la Trombopoietina recombinante (o una forma truncada constituida por la región aminoterminal de la molécula, llamada rHuMGDF) induce un incremento en el conteo plaquetario de hasta un 670% sobre el basal, acompañado de un incremento similar en la masa megacariocítica medular. En animales con mielosupresión, la administración de la Trombopoietina no sólo acorta la trombocitopenia y reduce o previene completamemte la necesidad de transfusiones, plaquetarias, sino que también acelera la recuperación de los progenitores eritroides y mieloides. Además, actúa sinergísticamente con el G-CSF (Factor estimulante de las colonias granulocíticas) o GM-CSF (Factor estimulante de las colonias de granulocitos y macrófagos), potenciando su capacidad para aminorar la neutropenia inducida por quimioterapia. Los estudios en pacientes adultos con cáncer, con o sin quimioterapia, han confirmado estos efectos en humanos, sin eventos adversos significativos directamente relacionados a la citokina. Aunque hasta el momento no ha sido publicado ningún estudio en niños, la evidencia existente sugiere que la trombopoietina se convertirá (en el futuro cercano) en una herramienta importante para la prevención y tratamiento de la trombocitopenia inducida por quimioterapia en todos los grupos de edad.

Palabra Clave: Trombopoíetina

Correspondencia y Separatas
Dr. Martha C. Sola
Division de Neonatologia, Departamento de Pediatria
Universidad de la Florida, Gainesville, Florida
Division of Neonatology,
University of Florida, College of Medicine,
P.O. Box 100296, Gainesville, FL 32610-0296;
Fax (352)392-4533, Telefono: (352)392-4195,
E-mail:Solamc@peds.ufl.edu.

© Los derechos de autor de los artículos de la Revista Oncología pertenecen a la Sociedad de Lucha contra el Cáncer SOLCA, Sede Nacional, Guayaquil - Ecuador

Abstract

Thrombopoietin is the recently discovered physiologic regulator of platelet production: Since its cloning and purification, in 1994, multiple in vitro studies have demonstrated that thrombopoietin is a potent stimulator of all stages of thrombopoiesis, and that it may play a role in platelet activation. In vivo, recombinant thrombopoietin (or a truncated form constituted by the aminoterminal region of the molecule, called rHuMGDF) induces an increase in the platelet counts of up to 670% from baseline, accompanied by a similar increase in the marrow megakaryocyte mass. In myelosuppressed animals, the administration of thrombopoietin not only shortens the duration of the thrombocytopenia, and reduces or completely prevents the need for platelet transfusions, but it also accelerates the recovery of erythroid and myeloid progenitors. In addition, it acts synergistically with G-CSF (Granulocyte Colony-Stimulating Factor) or GM-CSF (Granulocyte and Macrophages Colony-Stimulating Factor), potentiating their ability to ameliorate chemotherapy induced neutropenia. Studies on adult patients with cancer, with or without chemotherapy, have confirmed these effects in humans, without significant adverse events directly linked to the cytokine. Although no studies in children have been published to this date, the existent evidence suggests that thrombopoietin will become (in the near future) an important tool for the prevention and treatment of chemotherapy induced thrombocytopenia in all age groups.

Key words: Thombopoietin

Aspectos Históricos

En 1958, Kelemen utilizó por primera vez el nombre de trombopoietina (Tpo) para referirse a un supuesto regulador de la concentración de plaquetas [1]. En el transcurso de los 35 años siguientes, se realizaron muchos estudios utilizando el suero de animales y de pacientes con trombocitopenia [2,3], al igual que medio de cultivo de células de riñón embrionario humano [4-6], como materiales biológicos que se suponían ricos en trombopoietina. Sin

embargo, todos los intentos de aislar y purificar la proteína a partir de esos materiales fracasaron, al punto de que muchos investigadores empezaron a dudar de la existencia de un factor regulador del proceso de trombopoiesis. [7].

Curiosamente, el primer paso hacia la purificación y clonación de esta proteína fue la descripción (alejada del campo de la hematología) de un complejo viral capaz de inducir leucemia mieloproliferativa en ratones [8,9], bautizado como v-mpl (viral myeloproliferative leukemia). Unos años más tarde, Vigon y colaboradores [10] identificaron al homólogo humano de este complejo, para el que propusieron el nombre de c-mpl (cellular myeloproliferative leukemia). Sorpresivamente, los mismos investigadores descubrieron que la estructura del c-mpl era característica de un receptor de superficie celular, específicamente de un miembro de la familia de receptores de los factores de crecimiento hematopoietico. No se sabía, sin embargo, cual era el factor para el que c-mpl servía de receptor.

El descubrimiento de que el recién identificado c-mpl se encontraba casi exclusivamente en los megacariocitos y las plaquetas [11-12] sugirió que el factor para el que este era receptor debía tener un rol importante en la producción de plaquetas. Esto desencadenó una frenética búsqueda del ligando para el c-mpl, que culminó en 1994, cuando 5 diferentes grupos de investigadores aislaron la proteína casi simultáneamente. Cada grupo usó una metodología diferente, y cada uno le asignó a la nueva proteína un nombre diferente: ML (Mpl-Ligand) [13], trombopoietina [14], MGDF (Megakaryocyte Growth and Development Factor, o factor de crecimiento y desarrollo de los megakariocitos) [15], o megapoietina [16]. A excepción de diferencias relacionadas con las distintas especies animales, sin embargo, todos ellos secuenciaron la misma proteína. Treinta y seis años después de la descripción original de Kelemen, la trombopoietina había sido identificada.

Producción de Trombopoietina

Utilizando métodos de hibridización fluorescente in situ, el gen que codifica a la trombopoietina ha sido en el brazo largo del cromosoma 3 [17, 18]. La molécula de trombopoietina esta compuesta de 332 aminoácidos, divididos en dos regiones: una región aminoterminal activa (153 aminoácidos) que guarda gran similitud con la molécula de eritropoietina, y una región carboxiterminal, formada por 179 aminoácidos [18].

El sitio de producción de la trombopoietina ha sido sujeto de muchas investigaciones. Varios investigadores han demostrado expresión de mRNA para trombopoietina fundamentalmente en el hígado y en el riñón, y en el menor grado en otros tejidos, tales como músculo, bazo, cerebro, médula ósea, y testículos [14,19,20]. Desde el punto de vista clínico, sin embargo, el hígado parece ser el órgano mas importante para la producción de trombopoietina, puesto que la trombocitopenia es una complicación reconocida de las afecciones hepáticas severas o de resecciones hepáticas masivas [21,22], pero no suele complicar las enfermedades renales. A nivel celular, Sungaran y colaboradores [23] demostraron (utilizando técnicas de hibridización in situ) que las células responsables de la producción de trombopoietina son los hepatocitos en el hígado, y las células de los tubulos cortorneados proximales de los riñones. En la médula ósea, estos investigadores encontraron mínima expresión de mRNA para trombopoietina en sujetos normales, pero intensa expresión en las células del estroma en pacientes con trombocitopenia, sugiriendo que las células estromales tendrían un papel importante en la producción de trombopoietina en respuesta a una deficiencia de plaquetas. Investigaciones más recientes parecen confirmar que las células del estroma de la médula ósea aumentan la producción de trombopoietina en pacientes con trombocitopenia [24-26], mientras que la producción en el hígado y los riñones permanece constante [19,20,27].

En 1996, Emmons y colaboradores publicaron el primer estudio utilizando un ELISA para medir la concentración de trombopoietina en el plasma de sujetos normales, y de 48 pacientes con trombocitopenia [28]. Ellos reportaron altas concentraciones de trombopoietina en sujetos con deficiencia de megacariocitos (como en anemia aplástica), y niveles indetectablemente bajos en sujetos normales y en pacientes con un gran número de megacariocitos, cuya trombocitopenia era secundaria a una excesiva destrucción plaquetaria (como en púrpura trombocitopenica idiopática). Subsecuentemente, varios investigadores confirmaron esta aparente relación inversa entre los niveles de trombopoietina en el plasma y el número de megacariocitos en la médula ósea [29-31], sugiriendo que los niveles circulantes de trombopoietina estarían regulados fundamentalmente por la cantidad de receptores existentes, es decir, por el número de megacariocitos y plaquetas. Kuefer y colaboradores [32] demostraron la misma relación inversa entre los niveles circulantes de trombopoietina y el número de megacariocitos en 17 niños con trombocitopenia secundaria a diversas patologías. En todos estos grupos, las transfusiones de plaquetas estuvieron asociadas con una reducción moderada en las concentraciones de trombopoietina, reflejando el aumento en el número de receptores. De igual manera, niños con trombocitopenia amegacariocitica congénita y con síndrome de trombocitopenia y ausencia del radio (ambos transtornos caracterizados por una disminución del número de megacariocitos) presentan niveles elevados de trombopoietina [33,34], asociados con una ausencia [33] o disfunción [34] del receptor para esta citokina.

Obviamente, estos resultados despertaron gran interés en el uso clínico de las concentraciones de trombopoietina para el diagnóstico de pacientes con trombocitopenia. Sin embargo, reportes más recientes de altas concentraciones de trombopoietina en pacientes con coagulación intravascular diseminada [35], y en pacientes con trombocitosis [36] sugieren que los niveles de trombopoietina deben ser interpretados con cautela. En base a las investigaciones más recientes, la regulación de los niveles circulantes de esta proteína en estados patológicos parece depender del balance entre la capacidad de las células estromales de la médula ósea de aumentar la producción de trombopoietina, y la cantidad de trombopoietina que es captada y metabolizada por los receptores existentes en megacariocitos y plaquetas. En circunstancias no patológicas, el hígado es el órgano primario responsable de la producción de trombopoietina.

Actividad de la Trombopoietina In Vitro

Por muchos años, el proceso de producción de las plaquetas se consideró regulado por lo menos por dos factores independientes: un factor estimulante de las colonias de megacariocitos, cuyos efectos primordiales serían sobre los estadios mas tempranos del proceso de trombopoiesis, y la trombopoietina, cuya acción estaría limitada a los estadios finales de producción de plaquetas. En cuanto la trombopoietina fue purificada, y la forma recombinante estuvo disponible para estudios, resultó evidente que esta molécula estimulaba todos los estadios del proceso de trombopoiesis [37-40], aunque su rol en los estudios terminales de la formación de plaquetas está menos claramente establecido [41-43].

Estudios in vitro sugirieron que la trombopoietina también juega un papel importante en la activación de las plaquetas, fundamentalmente haciéndolas mas susceptibles a los efectos de otros agonistas [44], pero estos efectos no han sido confirmado in vivo [45]. Recientemente, ratones carentes de Tpo y de c-pml (^knock-out= mice) han sido generados [46,47]. Las concentraciones de plaquetas de estos ratones alcanzan solo el 10 al 15% de las de los ratones normales, confirmando así que la trombopoietina es el regulador primario de la producción de plaquetas, pero también existen vías alternativas en el proceso de trombopoiesis.

En adición a los efectos sobre la producción plaquetaria, últimamente se ha dedicado gran atención al estudio de los efectos de la trombopoietina sobre otras líneas hematológicas. In vitro, se ha demostrado que la trombopoietina por si sola estimula significativamente la proliferación y la supervivencia de los progenitores eritroides, mieloides, y multipotenciales [48]. Igualmente, se ha demostrado que la trombopoietina potencia la habilidad de la eritropoietina de formar colonias de eritrocitos en cultivo [49]. Ambos efectos parecen estar mediados por la capacidad de la trombopoietina de inhibir el proceso de apoptosis, o muerte celular programada, de los progenitores hematopoiéticos más primitivos [50,51].

Actividad de la Trombopoietina In Vivo

En el transcurso de los últimos tres años, múltiples estudios en animales han confirmado el rol de la trombopoietina como un potente estimulante de la producción de plaquetas. Dos diferentes moléculas con actividad trombopoietina han sido utilizadas en estos estudios: la molécula completa de trombopoietina recombinante (rTpo), y una forma truncada constituida únicamente por la región aminoterminal activa de la trombopoietina (rHuMGDF). Adicionalmente, esta última proteína ha sido conjugada con poliethilen glycol (PEG-rHuMGDF), proceso por el que se vuelve cinco a diez veces más potente en vivo que la forma no conjugada [52]. Esta formulación de trombopoietina, PEG-rHuMGDF, ha sido escogida para la mayoría de estudios en humanos publicados hasta ahora.

La mayoría de estudios iniciales se realizaron en ratones y en monos con concentraciones normales de plaquetas. Independientemente de la formulación de trombopoietina usada, todos los animales tratados demostraron un incremento en la concentración de plaquetas de magnitud proporcional a la dosis utilizada. En ratones, una inyección intraperitoneal de rHuMGDF indujo trombocitos, acompañada de una disminución del volumen plaquetario (MPV, Mean Platelet Volume). El incremento en el número de plaquetas se inició 3 días después de la inyección, y alcanzó su pico 5 días después de la administración de la droga. En los mismos animales, la administración diaria de rHuMGDF iniciada un día después de una inyección de carboplatino previno la trombocitopenia normalmente inducida por este agente quimioterápico [53].

En primates no humanos (baboons y monos rhesus), la administración subcutánea de rHuMGDF o PEGrHuMGDF en varios regímenes terapéuticos indujo un aumento en la concentración de plaquetas de la magnitud de hasta un 670% de la concentración original [54,55], acompañada de un aumento similar en el número, volumen, y ploidia (?) de los megacariocitos en la médula ósea. En estos estudios, el máximo incremento en la concentración de plaquetas estuvo en relación directa con el logaritmo de la dosis administrada [52]. El aumento en el número de las plaquetas se inició entre el tercer y el sexto día de la

terapia, independientemente de la dosis utilizada, y el efecto máximo se alcanzó alrededor de dos semanas después del inicio del tratamiento [52,54]. El número de plaquetas retornó a los valores iniciales aproximadamente dos semanas después de concluir la administración de la droga.

Estudios más reciente en modelos animales de trombocitopenia también han demostrado la habilidad de la trombopoietina, o cualquiera de sus derivados, para prevenir la trombocitopenia inducida por agentes quimioterapéuticos. Dos observaciones hechas en estos estudios llamaron particularmente la atención de la comunidad científica: primero, el efecto beneficioso de la trombopoietina acelerando la regeneración de las células eritropoiéticas en animales con mielosupresión [56,57], y segundo, la actividad sinergística de PEG-rHuMGDF con otros factores de crecimiento hematopoiéticos, tales como el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) o el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) [58]. En efecto, Harker y colaboradores [59] demostraron que en monos rhesus tratados con hepsulfam para inducir supresión de la médula ósea, la administración diaria de PEG-rHuMGDF por 22 días a partir del día de la quimioterapia, asociada con la administración de G-CSF a partir del día 7, previene tanto la trombocitopenia como la neutropenia normalmente inducidas por hepsulfam. Mas aun, Neelis y colaboradores [60] demostraron que una dosis intravenosa única de trombopoietina recombinante (5g/kg), administrada a monos rhesus un día después de haber sido sometidos a irradiación total, elimina completamente la necesidad de transfundir plaquetas, y normaliza la concentración de plaquetas dos semanas antes que en los animales tratados con placebo.

En el mismo estudio, la administración de trombopoietina aumentó la eficacia de G-CSF o de GM-CSF para reducir la severidad de la neutropenia inducida por la irradiación total, sin que se registren efectos adversos. Similares estudios en ratones [58] y en monos rhesus [61] sometidos a terapia mielosupresiva terminaron de confirmar el sinergismo de la trombopoietina con estos factores de crecimiento, y su capacidad de promover la recuperación no solo de los megacariocitos, sino también de los progenitores eritroides y mieloides.

Si bien la mayoría de estudios se han desarrollado en animales con mielosupresión inducida por quimioterapia o irradiación corporal total, y poco se sabe acerca del rol de la trombopoietina en pacientes con trombocitopenia secundaria a otros procesos patológicos, Harker y colaboradores recientemente publicaron un estudio evaluando la eficacia de PEG-rHuMGDF en chimpancés con trombocitopenia secundaria a infección con el virus de HIV [62]. En estos animales, la administración de tres dosis subcutáneas de PEG-rHuMGDF (25 g/kg/dosis) indujo una elevación de las plaquetas a 10 veces el valor inicial (de 64v19 a 599v260 x 10^3 plaquetas/ L), y aumentó el número de megacariocitos en la médula 30 veces sobre el número original. La concentración de neutrófilos circulante también aumentó transitoriamente, pero ni los glóbulos rojos ni los reticulocitos experimentaron ningún cambio. Ciertamente, este estudio sugirió que la trombopoietina podría constituir una nueva alternativa para el tratamiento de pacientes con trombocitopenia debida a infección con el virus de HIV, y probablemente para pacientes con trombocitopenia asociada con otras patologías.

Hasta el momento, cuatro estudios han sido publicados evaluando la actividad de la trombopoietina en pacientes con cáncer, antes o después de recibir tratamiento con quimioterapia. En noviembre de 1996, Basser y colaboradores [63] publicaron los resultados de un estudio evaluando los efectos de 10 días de tratamiento con diferentes dosis de PEG-rHuMGDF (0.03, 0.1, 0.3, o 1.0 g/kg/día) versus placebo en 17 pacientes con cáncer avanzado. Los pacientes que recibieron placebo, 0.03 y 0.1 g/kg/día de PEG-rHuMGDF experimentaron un incremento en la concentración de las plaquetas de 16%, 12%, y 39%, respectivamente. En contraste, aquellos pacientes que recibieron 0.3 y 1.0 g/kg/día de la medicación experimentaron un incremento en las plaquetas del 51% al 584%. En forma similar a las observaciones previas en primates, las plaquetas aumentaron a partir del sexto día de terapia, alcanzaron el pico entre los días 12 y 18, y retornaron a los valores originales entre los días 22 y 30 del estudio. Ni los leucocitos ni los glóbulos rojos sufrieron ninguna alteración, y ningún paciente sufrió efectos secundarios que pudieran atribuirse a la medicación. Subsecuentemente, el mismo grupo de investigadores administró PEG-rHuMGDF o placebo en combinación con filgrastim (G-CSF) a 41 pacientes con cáncer avanzado tratados con carboplatin (600 mg/m2) y ciclofosfamida (1,200 mg/m^2) [64]. PEG-rHuMGDF fue administrada a dosis de 0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, y 5.0 g/kg/día por vía subcutánea, por un período de 7 a 20 días después de la quimioterapia. Comparada con placebo, PEG-rHuMGDF aceleró la recuperación del número de plaquetas a valores normales en forma proporcionada a la dosis administrada, pero no hubo diferencias entre los grupos con respecto a la magnitud de la trombocitopenia.

En general, PEG-rHuMGDF fue muy bien tolerada, y no se registraron efectos adversos directamente atribuibles a esta medicación. Sin embargo, dos pacientes recibiendo PEG-rHuMGDF sufrieron trastornos trombóticos: un paciente con cáncer de pulmón fue diagnosticado con embolismo pulmonar 12 días después de concluir el tratamiento con PEG-rHuMGDF, y un paciente tuvo un episodio autolimitado de tromboflebitis en la pierna un día

después de concluir el tratamiento. Al tiempo de estos eventos, sus concentraciones de plaquetas eran 219 x 10^3/L y 468 x 10^3/L (respectivamente), haciendo difícil una correlación directa entre la administración de PEG-rHuMGDF y dichas complicaciones, en particular teniendo en consideración la predisposición de pacientes con cáncer a sufrir trombosis. En adición a las concentraciones plaquetarias, estos investigadores examinaron los efectos de PEG-rHuMGDF en el número de progenitores hematopoiéticos circulantes y demostraron una movilización de estos progenitores de la médula ósea a la circulación [65]. Esta propiedad de la trombopoietina ciertamente podría tener importantes aplicaciones clínicas, permitiendo la colección mas eficaz de progenitores hematoiéticos circulantes destinados para transplante.

En febrero de 1997, Fanucchi y colaboradores publicaron los resultados de un estudio randomizado, a doble ciego, y controlado con placebo, evaluando los efectos de PEG-rHuMGDF en pacientes con cáncer de pulmón tratados con carboplatin y paclitaxel [66]. En resumen, 53 pacientes fueron randomizados para recibir placebo o diferentes regímenes de PEG-rHuMGDF, con dosis entre 0.03 y 5.0 g/kg/día. Todas las dosis fueron administradas por vía subcutánea, y la duración del tratamiento varió entre 3 y 16 días consecutivos, a partir del día siguiente a la quimioterapia. A diferencia de los resultados publicados por Basser y colaboradores, estos investigadores observaron no solo un acortamiento en la duración de la trombocitopenia (14 vs. 21 días), sino también una disminución en la severidad de la misma en los pacientes tratados con PEG-rHuMGDF, en comparación con aquellos recibiendo placebo. En general, la medicación fue bien tolerada, y la mayoría de efectos adversos observados fueron aquellos consistentes con los efectos del cáncer de pulmón y de la quimioterapia. Sin embargo, un paciente recibiendo PEG-rHuMGDF presentó una trombosis venosa profunda complicada con embolismo pulmonar cuando la concentración de plaquetas era 243 x 10^3 / L, y otro paciente (también recibiendo la medicación) experimentó una tromboflebitis superficial de la vena safena, cuando su concentración plaquetaria era 468 10^3 / L. Un tercer paciente desarrollo una erupción máculopapular y prurítica difusa, que se resolvió una vez que la medicación fue descontinuada.

Un estudio por Vadhan-Raj y colaboradores, evaluó la respuesta de pacientes con sarcoma a una dosis intravenosa única de trombopoietina recombinante [67]. En breve, 12 pacientes con sarcoma que nunca habían recibido quimioterapia fueron randomizados para recibir una dosis de trombopoietina de 0.3, 0.6, 1.2, o 2.4 g/kg. El diseño de este estudio permitió evaluar aspectos farmacodinámicos y farmacokinéticos de esta citokina. En concordancia con resultados previos, el tratamiento resultó en un aumento en el número de plaquetas en relación con la dosis utilizada. El incremento en las plaquetas se inició entre el cuarto y el octavo día posterior a la inyección, el pico se alcanzó entre los días 10 y 15 del estudio, y las plaquetas regresaron a valores normales después del día 21. Estudios de función plaquetaria no demostraron ninguna evidencia de activación en respuesta a la administración de trombopoietina, y no se observaron cambios en el número de glóbulos rojos o leucocitos circulantes. Estudios farmacokinéticos demostraron un aumento en la concentración de trombopoietina en el plasma, proporcional a la dosis utilizada. La vida media de la trombopoietina osciló entre 18 y 32 horas, y en general, permaneció detectable en la circulación por 5 a 6 días después de la administración por vía intravenosa. No se detectaron efectos secundarios atribuibles a esta citokina.

Uso de la Trombopoietina en Cáncer Infantil

En niños, al igual que en adultos, la oncología ha avanzado a pasos agigantados en las últimas décadas, y las posibilidades de alcanzar curación total en diversos tipos de cáncer han aumentado enormemente. El gran limitante del uso de agentes quimioterapéuticos más potentes y efectivos, sin embargo, sigue siendo la severidad de la mielosupresión que invariablemente acompaña a estos tratamientos. Con el tiempo, antibióticos mas sofisticados y el uso de G-CSF en pacientes neutropénicos han permitido al menos reducir el riesgo de infecciones serias, y bancos de sangre con protocolos estrictos han hecho de las transfusiones de glóbulos rojos un procedimiento cada vez menos riesgoso. En contraste, por mucho tiempo hemos tenido poco que ofrecer a los pacientes con trombocitopenia severa, más allá de transfusiones de plaquetas que generalmente exponen al paciente a más de un donante. Si bien no se han publicado aún estudios en niños, la evidencia existente nos permite predecir que la trombopoietina adquirirá gran importancia –en un futuro cercano- en la prevención y el tratamiento de la trombocitopenia asociada a la quimioterapia de leucemias y otros cánceres infantiles. El régimen terapéutico ideal aún está por ser determinado.

Aunque la toxicidad de esta citokina a corto plazo parece ser mínima, es aún muy temprano para determinar sus efectos a largo plazo. La presencia de receptores para este factor de crecimiento (en mínimas cantidades) en ciertas células cancerosas [68] constituye un motivo de preocupación, puesto que la trombopoietina es un potente estimulante de la replicación de las células sobre las que actúa. Por lo pronto, sin embargo, la trombopoietina nos ofrece la posibilidad –por vez primera- de manipular la producción de plaquetas sin efectos secundarios obvios. Lo demás, el tiempo lo dirá.

Bibliografía

1. Kelemen E, Cserhati I, Tanos B. Demonstration and some properties of human thrombopoietin in thrombocythemic sera. Acta Haematol (Basel) 1958;20:350.

2. Hill RJ, Levin J, Levin FC. Correlation of in vitro and in vivo biological activities during the parcial purification of thrombopoietin. Exp Hematol 1992;20:354.

3. Hill RJ, Warren MK, Levin J, Gauldie J. Evidence that interleukin-6 not play a role in the stimulation of platelet production after induction of acute thrombocytopenia. Blood 1992;80:346.

4. McDonald TP, Jackson CW. Thrombopoietin derived from human embryonic kidney cells stim ulates an increase in DNA content of murine megakaryocytes in vivo. Exp Hematol 1990;18:758.

5. McDonald TP, Cottrell MB, Swearingen CJ, Clift RE. Comparative effects of thrombopoietin and interleukin-6 on murine megakaryocypoiesis and plantelet production. Blood 1991;77:735.

6. McDonald TP, Wendling F, Vainchenker W, McCarty JM, Jorgenson MJ, Kaushansky K. Thrombopoietin from human embryonic kidney cells is the same factor as c-mpl-Ligand. Blood 1995;85:292.

7. Kaushansky K. Thrombopoietin: the primary regulator of platelet production. Blood 1995;86:419.

8. Wendling F, Varlet P, Charon M, Tambourin P. A retrovirus complex inducing an acute myelo proliferative leukemia disorder in mice. Virology 1986;149:242.

9. Soury M, Vigon I, Penciolelli J-F, Heard J-M, et al. A putative truncated cytokine receptor gene transduced by the myeloproliferative leukemia virus immortalizes hematopoietic progenitors. Cell 1990;63:1137.

10. Vigon I, Mornon J-P, Cocault L, at al. Molecular cloning and characterization of MPL, the human homolog of the v-pml oncogene: Identification of a member of the hematopoietic growth factor receptor superfamily. Proc Natl Acad Sci USA 1992;89:5640.

11. Methia N, Louache F, Vainchenker W, Wendling F. Olideoxynucleotides antisense to the proto-oncogene c-mpl specifically inhibit in vitro megakaryocytopoiesis. Blood 1993;82:1395.

12. Mignotte V, Vigon I, Boucher de Crevecoeur E, et al. Structure and transcription of the human c-mpl gene (MPL). Genomics 1994;20:5.

13. De Sauvage FJ, Hass PE, Spencer SD, et al. Stimulation of megakaryocytopoiesis and throm bopoietin by the c-Mpl ligand. Nature 1994;533-538

14. Lok S, Kaushansky K, Holly RD, et al. Cloning and expression of murine thrombopoietincDNA and stimulation of platelet production in vivo. Nature 1994;369:565-568

15. Bartley TD, Bogenberger J, Hunt P, at al. Identification and cloning of a megakaryocyte growth and development factor that is a ligand for the cytokine receptor Mpl. Cell 1994;77:1117-1124

16. Kuter DJ, Beeler DL, Rosenberg RD. The purification of megapoietin: A physiological regulator of megakaryocyte growth and platelet production. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:11104

17. Foster DC, Sprecher CA, Grant FJ, et al. Human thrombopoietin: gene structure, cDNA sequence, expression, and chromosomal localization. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:13023-13027

18. Gurney AL, Kuang W-J, Xie M-H, et al. Genomic structure, chromosomal localization, and con served alternative splice forma of thrombopoietin. Blood 1995;85:981-988

19. Stoffel R, Wiestner A, Skoda RC. Thrombopoietinin thrombocytopenic mice: evidence against regulation at the mRNA level and for a direct regulatory role of platelets. Blood 1996;87:567-573

20. McCarty JM, Sprugel KH, Fox NE, et al. Murine thrombopoietin mRNA levels are modulated by platelet count. Blood 1995;86:3668-3675

21. Whitesell FB, Snell AM. Thrombopoietin and increased capillary fragility in hepatic disease. JAMA 1949;140:1071-1076

22. Nilehn JE, Nilsson IM, Aronsen KF, Ericsson B. Studies on blood clotting factors in man after mas sive liver resection. Acta Chir Scand 1967;133:189-195

23. Sugaran R, Markovic B, Chong BH. Localization and regulation of thrombopoietin mRNA expression in human kidney, liver, bone marrow and spleen using in situ hybridization. Blood 1997;89:101

24. Guerriero A, Worford L, Holland HK, et al. Thrombopoietin is synthesized by bone marrow stromal cells. Blood 1997;90:3444

25. Nagahisa H, Nagata Y, Ohnuki T, et al. Bone mar row stromal cells produce thrombopoietin and stimulate megakaryocyte growth and maturation but suppress proplatelet formation. Blood 1996;87:1309

26. Hirayana Y, Sakamaki S, Matsunaga T, et al. Concentrations of thrombopoietin in bone marrow in normal subjects and in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura, aplastic anemia, and essential thrombocythemia correlate with its mRNA expression of bone marrow stromal cells.Blood 1998;92:46-52

27. Shimada Y, Kato T, Ogami K, et al. Production of thrombopoietin (TPO) by rat hepatocytes and hepatoma cell lines. Exp Hematol 1995,23:1388-1396

28. Emmons RVB, Reid DM, Cohen RL, et al. Human thrombopoietin levels are high when thrombo cytopenia is due to megakaryocyte deficiency and when due to increased platelet destruction. Blood 1996;87:4068-4071

29. 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 haemopoi etic disorders. British Journal of Haematology 1996; 93:783-788

30. Kunishima S, Tahara T, Kato T, et al. Serum thrombopoietin and plasma glycocalicin concentrations as useful diagnostic markers in thrombocytopenic disorders. Eur J Haematol 1996;57:58

31. Chang M, Suen Y, Meng G, et al. Differential mechanisms in the regulation of endogenous levels of thrombopoietin and interleukin-11 during thrombocytopenia: Insight into the regulation of platelet production. Blood 1996;88:3354

32. Kuefer MU, Wang WC, Head DR, et al. Thrombopoietin level in young patients is related to megakaryocyte frequency and platelet count. J Pediatr Hematol Oncol 1998;20:36

33. Muraoka K, Ishii E, Tsuji K, et al. Defective response to thrombopoietin and impaired expression of c-mpl mRNA of bone marrow cells in congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. Br J Haematol 1997;96:287

34. Ballmaier M, Schulze H, Strauss G, et al. Thrombopoietin in patients with congenital thrombocy topenia and absent radii: Elevated serum levels, normal receptor expression, but defective reactivity to thrombopoietin. Blood 1997:90:612

35. Hiyoyama K, Wada H, Shimura M, et al. Increased serum levels of thrombopoietin in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura, idiopathic thrombocytopenic purpura, or disseminated intravascular coagulation. Blood Coagulation and Fibrinolysis 1997;8:345

36. Cerutti A, Custodi P, Duranti M, et al. Thrombopoietin levels in patients with primary and reactive thrombocytosis. Br J Haematol 1997;99:281

37. Zeigler FC, de Sauvage F, Widmer HR, et al. In vitro megakaryocytopoietic and thrombopoietic activity of c-mpl Ligand (TPO) on purified murine hematopoietic stem cells. Blood 1994;84:4045

38. Debili N, Wendling F, Katz A, et al. The Mpl-Ligand or thrombopoietin or megakaryocyte growth and differentiative factor has both direct proliferative and diffentiative activities on human megakaryocyte progenitors. Blood 1995;86:2516

39. Banu N, Wang JF, Deng B, et al. Modulation of megakaryocytopoiesis by thrombopoietin: The c-Mpl Ligand. Blood 1995;86:1331

40. Kaushansky K, Broundy VC, Lin N. Thrombopoietin, the Mpl ligand, is essential for full megakary ocyte development. Proc Natl Acad Csi USA 1995;92:3234

41. Toshiharu I, Ishida Y, Kashiwagi R, et al. Recombinant human c-Mpl ligand is not a direct stimulator of proplatelet formation in mature human megakaryocytes. Br J Haematol 1993;94:387

42. Choi ES, Hokom MM, Chen JL, et al. The role of megakaryocyte growth and developemt factor in terminal stages of thrombopopiesis. Br J Haematol 1996;95:227.

43. Buting S, Widmer R, Lipari T, et al. Normal platelets and megakaryocytes are produced in vivo in the absence of thrombopoietin. Blood 1997;90:3423

44. Chen J, Herceg-Harjacek L, Groopman JE, et al. Regulation of platelet activation in vitro by the c-Mpl ligand, thrombopoietin. Blood 1995;86:4054

45. O=Malley CJ, Rasko JE, Basser RL, et al. Administration of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor humans stimulates the production of functional platelet that show no evidence of in vivo activation. Blood 1996;88:3288

46. De Sauvage F, Carver-Moore K, Louh S, et al. Physiological regulation of early and late stages of megakaryocytopoiesis by thrombopoietin. J Exp Med 1996;183:651

47. Gurney AL, Carver-Moore K, de Sauvage FJ, et al. Thrombocytopenia in c-mpl-deficient mice. Science 1994:265:1445

48. Yoshida M, Tsuji K, Ebihara Y, et al. Thrombopoietin alone stimulates the early proliferation and survival of human erythroid, myeloid and multipotential progenitors in serum-free culture. Br J Heamatol 1997;98:254

49. Kobayashi M, Laver JH, Kato T. Recombinant human thrombopoietin (Mpl Ligand) ehances pro liferation of erythroid progenitors. Blood 1995;86:2494

50. Ratajczak MZ, Ratajczak J, Marlicz W. Recombinant human thrombopoietin (Tpo) stimulates ery thropoiesis by inhibiting erythroid progenitor cell apoptosis. Br J Haematol 1997;98:8

51. Borge OJ, Ramsfjell V, Ciu L, et al. Ability of early acting cytokines to directly promote survival and suppress apoptosis of human primitive CD34+CD38 bone marrow cells with multilineage potential al the single-cell level: Key role of thrombopoietin. Blood 1997;90:2282

52. Karker LA, Marzec UM, Hunt P, et al. Dose-Response Effects of Pegylated Human Megakaryocyte Growth and Development Factor on Platelet Production and Function in Nonhuman Primates. Blood 1996;88:511

53. Ulich TR, del Castillo J, Yin S, et al. Megakaryocyte growth and development factor ameliorates carboplatin-induced thrombocytopenia in mice. Blood 1995;86:971

54. Farese AM, Hunt P, Boone T, et al. Recombinant human megakaryocyte growth and develpment factor simulates thrombocytopoiesis in normal monhuman primates. Blood 1996;86:54

55. Karker LA, Hunt P, Marzec UM, et al. Regulation of Platelet Production and Function by Megakaryocyte Growth and Development Factor in Nonhuman Primates. Blood 1996;87:1833

56. Grossmann A, Lenox J, Ren HP, et al. Thrombopoietin cceleratis platelet, red blood and, neu trophil recovery in myelosuppressed mice. Exp Hematol 1996;24:1238

57. Neelis KJ, Qingiang L, Thomas GR, et al. Prevention of thrombocytopenia by thrombopoietin in myelosuppressed rhesus accompanied by prominent erythropoietic stimulation and iron depletion. Blood 1997;90:58

58. Grossmann A, Lenox J, Deisher TA, et al. Synergistic effects of thrombopoietin and granulocyte colony-stimulating factor neutrophil recovery in myelosuppressed mice. Blood 1996;88:3363

59. Harker LA, Marzec UM, Kelly AB, et al. Prevention of thrombocytopenia and neutropenia in a non human primate model of marrow suppressive chemotherapy by combining pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. Blood 1997;89:155

60. Neelis KJ, Hartong SCC, Egeland T, et al. The efficacy of single-dose administration of thrombopoietin with coadministration of either granulocyte/macrophage of granulocyte colony-stimulat ing factor in myelosuppressed rhesus monkeys. Blood 1997;90:2565

61. Neelis KJ, Dubbelman YD, Qingliang L, et al. Simultaneous administration of Tpo and G-CSF after cytoreductive treatment of rhesus monkeys prevents thrombocytopenia, accelerates platelet and red cell reconstitution, alleviates neutropenia, and promotes the recovery of immature bone mar row cells. Exp Hematol 1997;25:1084

62. Harker LA, Marzec UM, Novembre F, et al. Treatment of thrombocytopenia in chimpanzees

nodeficiency virus by pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor. Blood 1998;91:4427

63. Basser RL, Rasko JEJ, Clarke K, et al. Thrombopoietin effects of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor (PEG-rHuMGDF) in patients with advanced cancer. Lancet 1996;348:1279

64. Basser RL, Rasko JEJ, Clarke K, et al. Randomized, blinded, placebo-controlled phase I trial of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor with filgrastim after dose-intensive chemotherapy in patients with advanced cancer. Blood 1997;89:3118

65. Rasko JEJ, Basser RL, Boyd J, et al. Multilineage mobilization of peripheral blood progenitors cells in humans following administration of PEG-rHuMGDF. Br J Haematol 1997;97:871

66. Fanucchi M, Glaspy J, Crawford J, et al. Effects of polyethylene glycolconjugated recombinant human megakaryocyte growth and development factor on platelet counts after chemotherapy for lung cancer. N Engl J Med 1997;336:404

67. Vadhan-Raj S, Murray LJ, Bueso-Ramos C, et al. Stimulation of megakaryocyte and platelet production by a single dose of recombinant human thrombopoietin in patients with cancer. Ann Int Med 1997;126:673

68. Takeshita A, Shinjo K, Izumi M, et al. Quantitative expression of thrombopoietin receptor on eukaemia cells from patients with acute myeloid leukaemia and acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol 1998;100:283

Del Editor:

CHEQUEO PARA LOS AUTORES, PREVIO A LA ENTREGA DE TRABAJOS

- ☐ Se requieren el original y 2 copias del manuscrito y de las ilustraciones
- ☐ El manuscrito debe estar escrito a doble espacio
- ☐ El título debe ser conciso y corto
- ☐ El abstracto tendrá un máximo de 500 palabras en el caso de artículos originales y de 100 en los reportes de casos
- ☐ Debe incluirse la versión en inglés del abstracto
- ☐ Especificar la filiación institucional de cada autor, incluyendo el nombre completo del autor o autores, dirección, teléfono, fax o dirección de correo electrónico
- ☐ Cada ilustración deben estar en una página separada en la que debe indicarse el borde superior, el nombre del primer autor, el título del trabajo y el número del orden que le corresponde
- ☐ Deben enviarse el certificado de exclusividad y de no tener conflicto de interés financiero relacionado al trabajo, firmado por todos los autores
- ☐ Para la publicación del manuscrito en la revista es indispensable el certificado de cesión de los derechos de autor