

CITOQUINAS HEMATOPOYETICAS Y CUADRO HEMATOLOGICO

FELISA C. MOLINAS

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

Agradezco a la SAIC la invitación para dar esta conferencia, no solamente porque me siento muy honrada sino también emocionada. No es fácil, creo, para los que trabajamos en el Instituto cuando el Dr. Lanari era su director elegir algún aspecto de su personalidad para destacar, pues éstos fueron muchos. Tenía un gran espíritu crítico, pero sus comentarios eran siempre constructivos, y eran un aliento cuando las cosas no andaban bien, por dificultades con las técnicas o por los malos resultados. Creo que todos recordamos sus visitas al final de la tarde, con sus pasos silenciosos apareciendo sin aviso para ver y preguntar por nuestro trabajo. Escuchando e interesándose siempre, preguntando como al pasar si habíamos leído tal o cual trabajo recién publicado, cuyo título le hacía suponer que podría sernos de utilidad. Claro que sabíamos que teníamos que leerlo porque tarde o temprano nos preguntaría por él. Celoso de sus funciones de director y así de los trabajos que se realizaban, los trabajos para publicar y los resúmenes para los congresos debían ser leídos por él antes de enviarlos, con sus comentarios cuando lo consideraba necesario. Siempre tenía tiempo para escuchar nuestras dificultades, aún a veces las personales. Por todo esto y por muchas otras, podría definir su actitud con una sola palabra, generosidad. También era parco para expresar halagos y casi pudoroso para recibirlos. Por eso traje para recordarlo una frase de su ensayo sobre los homenajes escrito en ocasión del retiro del profesor Sherrington de Oxford para el que se habían reunido 5 premios Nobel de Medicina en una celebración simple para despedirlo, casi en la intimidad. Esa frase tomada del Merchant of Venice, dice, V, i, Jessica, "I am never merry when I hear sweet music".

Los progenitores hematopoyéticos primitivos tienen la capacidad de autorrenovación, que significa la renovación de células con la misma función, así como de diferenciación y maduración¹. Las células progenitoras pueden ser reconocidas por los antígenos o receptores de sus membranas y sólo tardíamente por la morfolo-

gía. Estas células se caracterizan por tener lo que se denomina fidelidad de linaje. Es decir, una vez que adquieren marcadores de una línea celular (eritroide, granulocítica, megacariocítica) no pueden convertirse en otra línea celular. Salvo en casos patológicos como en las leucemias bifenotípicas.

Los factores de crecimiento hematopoyéticos regulan la proliferación de los progenitores hemopoyéticos, promoviendo no solamente la mitosis y la diferenciación sino también la sobrevida celular. Se demostró que los progenitores eritroides tardíos necesitan de la eritropoyetina (Epo) para sobrevivir y esto se logra retardando la degradación del DNA, previniendo así la apoptosis de una fracción de la población eritroide. Efectos similares tienen las otras citoquinas hemopoyéticas como la IL-3 y el SCF (c-kit). Se pensó inicialmente que las citoquinas hemopoyéticas eran específicas de linaje celular, pero posteriormente se comprobó la existencia de interacciones de citoquinas específicas (Epo, Tpo, G-CSF) con las otras líneas celulares. La eritropoyetina es la principal citoquina reguladora de la eritropoyesis y la única que tiene efecto en las etapas finales de la maduración de la línea eritroide. Actúa transformando células no identificables morfológicamente como eritroides en proeritroblastos y eritroblastos. Los niveles plasmáticos de eritropoyetina se regulan por la tensión parcial de oxígeno y también tendría un rol la unión a sus receptores específicos. La trombopoyetina (Tpo) es la citoquina fundamental para la diferenciación y proliferación de los megacariocitos, aunque también se requiere la participación de otras citoquinas. La Tpo actúa en forma sinérgica con las citoquinas SCF, IL-3, IL-6, IL-11 y G-CSF en la proliferación de progenitores hematopoyéticos primitivos murinos². Se demostró que la Tpo también estimula la proliferación en etapas tempranas y la sobrevida de progenitores eritroides, mieloides y multipotenciales. Se postuló además que la Tpo estimularía la eritropoyesis previniendo la apoptosis de los progenitores eritroides tardíos³. Se halló una correlación inversa entre el número de megacariocitos y los niveles

plasmáticos de Tpo, encontrándose los niveles más elevados en la trombocitopenia amegacariocítica y en la aplasia medular⁴. Sin bien algunos autores proponen que las plaquetas también tienen un rol, aún no son claros los mecanismos de su participación en la regulación de los niveles de Tpo. El receptor del Tpo, el c-mpl, también participaría por el *binding* de Tpo, pues al producirse la endocitosis del complejo receptor-ligando, contribuiría en la eliminación de circulación de esta citoquina⁵.

En la regulación de la hemopoyesis intervienen además otras proteínas como el factor de necrosis tumoral (TNF- α), el factor de crecimiento transformante (TGF- β)¹ y el factor plaquetario 4 (FP4)⁶. El FP4 es una quemoquina específica de las plaquetas que inhibe la formación de colonias megacariocíticas.

En diversas patologías agudas y crónicas se hallaron niveles aumentados de estas citoquinas en sangre periférica. En esta presentación me referiré solamente a dos de ellas, que considero paradigmáticas para comprender su intrincada interacción.

En los pacientes con la denominada anemia de los procesos crónicos se hallaron niveles aumentados del TNF- α y en consecuencia algunos autores propusieron que esta citoquina podría ser una de las mediadoras de ese cuadro. Posteriormente se demostró *in vitro* que el TNF- α tiene un efecto inhibitorio sobre los progenitores eritroides. Algunos autores propusieron que este efecto era indirecto mediado por otros factores liberados por las células accesorias, en particular el INF- β . Sin embargo, el efecto del TNF- α depende de la unión a sus receptores, fundamentalmente al receptor p-55⁷. También el TGF- β , producido por los fibroblastos y otras células, cuyo principal reservorio es la plaqueta, es un regulador bifuncional de los progenitores hemopoyéticos¹. La infusión de TGF- β en ratones produce una significativa disminución de las colonias eritroides CFU-E y BFU-E. Se postuló que la producción autocrina de TGF- β por una subpoblación de células progenitoras hemopoyéticas podría estar relacionada con el mantenimiento de progenitores primitivos en estado quiescente.

Fiebre hemorrágica argentina

La fiebre hemorrágica argentina (FHA) es una enfermedad viral cuyo agente etiológico es el virus Junin. En la fase aguda de la enfermedad los pacientes presentan compromiso hematológico y neurológico⁸. Las alteraciones hematológicas consisten en leucopenia, trombocitopenia y alteraciones de la hemostasia^{9,12}. Los estudios de médula ósea¹³ que se realizaron en estos pacientes durante la fase aguda mostraron disminución global de la celularidad, con marcada eritroblastopenia y cambios megaloblastoides. En cambio los megacariocitos se hallaron menos afectados. Llama la atención que los pa-

cientes presenten valores normales de hematocrito y hemoglobina durante la fase aguda, con solamente un descenso moderado en el 20% de los casos en un período de observación de 180 días posteriores a la infección. Estos resultados sugieren que la detención transitoria de la maduración de las células progenitoras no tiene su expresión en sangre periférica debido a la larga sobrevivencia de los glóbulos rojos. También se halló activación de ambas vías del sistema complemento durante la fase aguda^{14,15}. El IFN- α está muy elevado durante la primera semana de enfermedad y se normaliza en la segunda semana en los pacientes que sobreviven y que no recibieron plasma inmune como tratamiento¹⁶. Pero no se encontró correlación entre este aumento y la mortalidad. Estos resultados hicieron pensar que el IFN- α podría no ser funcionante. Sin embargo, el hallazgo de niveles elevados de la 2'-5' oligoadenilato sintetasa en células mononucleares periféricas indicó que el IFN- α es biológicamente activo¹⁷. El TNF- α se halló aumentado en todos los pacientes con la forma grave de la FHA y en el 62% de aquellos con la forma moderada¹⁸.

Los factores de crecimiento hemopoyéticos evaluados en estos pacientes mostraron disminución de la Epo en el 62% de los pacientes y aumentada en algunos casos con la forma clínica grave que fallecieron con un cuadro de shock. Se halló aumento de la Tpo en el 90% y del G-CSF en el 63% de los casos, mientras que los niveles del GM-CSF, la IL-3 y el TGF- β estuvieron dentro de valores normales en la mayoría de los pacientes. Se encontró una correlación directa entre los valores del TNF- α y el G-CSF ($p < 0.001$)¹⁹. Pensamos que los niveles bajos de Epo podrían contribuir en la severa eritroblastopenia descripta en la médula ósea en pacientes con FHA, mientras que el G-CSF podría ser un marcador de la severidad de la enfermedad. Por otra parte, el TNF- α estaría involucrado en la severa hipoplasia medular y en la inhibición de la producción de Epo durante la fase aguda. En cambio no es claro de interpretar el aumento del Tpo en estos pacientes que tienen megacariocitos conservados en médula ósea.

Las citoquinas IL-6, IL-8 e IL-10 también se encontraron significativamente aumentadas en los pacientes con la forma severa de la enfermedad durante la fase aguda. La IL-8 es un citoquina con actividad quemoatáctica y activadora de neutrófilos y su aumento en la fase aguda de la FHA se correlaciona con la severidad de la enfermedad ($p = 0.011$) (15,20). La IL-6 se relaciona con la fiebre y el aumento de la síntesis de las proteínas de fase aguda. Los complejos formados por la IL-6 y el receptor específico unido a la membrana, así como a su forma soluble (IL-6 sR) induce homodimerización y fosforilación de residuos de tirosina en otra molécula, la gp130, que es el verdadero transductor. Por lo tanto el complejo IL-6/IL-6sR puede activar células que carecen de receptor para IL-6 pero que tienen la gp130 en la

membrana. En los pacientes con FHA se halló aumento del IL-6sR en un 30% de los casos, lo que sugiere una potenciación de la actividad de la IL-6. También se encontró aumentada la IL-10 que suprime la producción de las citoquinas proinflamatorias, el TNF- α , IL-1, IL-6 y la IL-8, contrarrestando la inflamación desencadenada por la infección. Se halló, además, correlación significativa entre el TNF- α y la IL-8, ($r:0.78$, $p<0.001$). En cambio los niveles séricos de IL-1 no difirieron de los normales. Los valores bajos de Epo podrían estar relacionados con los elevados niveles de TNF- α .

Trombocitemia esencial

La trombocitemia esencial es una enfermedad mieloproliferativa crónica que se caracteriza por el aumento de megacariocitos en médula ósea y del número de plaquetas en sangre periférica, que puede asociarse a complicaciones trombóticas y/o hemorrágicas. El diagnóstico de trombocitemia esencial se hace por exclusión de otras enfermedades mieloproliferativas, así como de los síndromes mielodisplásicos y de trombocitosis secundarias (ferropenia). Para su diagnóstico se utilizan los criterios propuestos en 1997 por el Grupo de Estudio de Policitemia Vera²¹. La ausencia de la translocación *bcr/abl* para diferenciar la TE de la leucemia mieloide crónica es actualmente un punto controvertido, dado que empleando técnicas más sensibles como la denominada *nested* RT-PCR que reconoce 1×10^5 copias²², se encontró la translocación *bcr/abl* en células de la médula ósea en el 48% de las TE y en células de sangre periférica en el 19%. Sin embargo, con técnicas de similar sensibilidad y en sangre periférica, otros grupos lo hallaron entre el 0% y el 8%²³ y en nuestra experiencia la translocación *bcr/abl* se halló en el 9.3% de los pacientes.

El origen clonal de estos síndromes se estableció por el hallazgo en las mujeres, heterocigotas para la G6PD, de la expresión de solamente una de las isoenzimas en las células sanguíneas derivadas de las tres líneas celulares hematopoyéticas²⁴. Más recientemente, El-Kassar y col²⁵ demostraron la clonalidad de la TE analizando el polimorfismo de la inactivación del cromosoma X en el DNA del gen HUMARA. En las mujeres normales el cromosoma X materno o paterno se inactiva al azar en una etapa temprana de la embriogénesis. En las pacientes con TE las células sanguíneas tienen el mismo tipo de inactivación, es decir que provienen de la misma célula troncular indicando así que los pacientes tienen una enfermedad clonal. Contradiendo estos resultados recientemente otro grupo propuso que la TE puede ser tanto clonal como policlonal.

Hay referencias que muestran que el 5% de los pacientes con TE tienen variadas alteraciones citogenéticas, similares a las descritas en los otros síndromes

mieloproliferativos. En nuestra población estas alteraciones consistieron en: $1q-$; $20q-$; $ins(4,11)(q34-5;q13-4)$; $13q-/ +8$; $inv8/del12$. Tampoco están definidas las alteraciones moleculares de la TE²⁶. No se hallaron alteraciones de la p53, N-RAS, K-RAS ni MDM2 durante la fase crónica de la enfermedad. Sin embargo, se encontraron mutaciones de la p53 durante la crisis blástica en pacientes con TE²⁷. Se demostró en pacientes con TE la formación de colonias espontáneas in vitro de progenitores megacariocíticos de la médula ósea, por lo que se propuso usar esta técnica para diferenciar la trombocitemia esencial de la trombocitosis reactiva²⁸.

El ligando del receptor *c-mpl* es la trombopoyetina. Los estudios de *binding* mostraron que las plaquetas humanas normales tienen una sola clase de receptor en un número de 57 ± 17 (rango 39-81) por plaqueta con una Kd 163 ± 31 pM (123-218). Mientras en plaquetas de pacientes con TE se encontró 9 ± 8 (4-18) sitios por plaqueta y un Kd de 31 pM (80-110)²⁹. Los megacariocitos humanos normales tienen 12140 receptores *c-mpl* por célula, con Kd de 749 pM. Se comprobó recientemente que la anormal expansión de los progenitores megacariocíticos no se debe a una mutación puntual del gen del receptor *c-mpl*³⁰. El nivel plasmático de la trombopoyetina en pacientes con TE está normal o ligeramente aumentado³¹.

El objetivo del estudio de las citoquinas hematopoyéticas en la TE fue saber si la disregulación de la megacariocitopoyesis encontrada en los pacientes se evidencia en cambios en los niveles de los factores de crecimiento en sangre periférica. Se encontraron niveles aumentados de IL-6sR en el 53% de los pacientes, de IL-3 en el 20%, de Tpo en el 12.5%, de IL-11 en el 3.4% y del SCF en el 9.3%. Los niveles de los demás factores fueron normales en todos los casos^{31, 32}. El aumento del IL-6sR en plasma nos indujo a estudiar los posibles mecanismos de su generación y de su origen. El estudio del IL-6sR liberado al medio condicionado por células mononucleares en cultivo mostró un aumento significativo en los pacientes. La expresión del RNA mensajero de las dos isoformas del receptor de IL-6 mostró una tendencia al aumento de la expresión de ambas isoformas en los pacientes con TE. Debido al hallazgo de niveles aumentados de IL-6sR en los pacientes sin tratamiento, se evaluaron los niveles de IL-6sR en las muestras de algunos de ellos en remisión hematológica y clínica. En 11 casos que presentaron niveles altos en la muestra antes del tratamiento se observó que en la muestra tomada durante la normalización del recuento plaquetario los valores del IL-6sR se mantenían altos o disminuían pero sin retornar a valores normales.

Se postula que la mielofibrosis es la consecuencia de una disregulación de los factores PDGF, TGF- β y del bFGF³³⁻³⁶. Tanto en la mielofibrosis como en la

trombocitemia esencial hay aumento de megacariocitos en la médula ósea, aunque con alteraciones morfológicas en la primera y de aspecto normal en la segunda. Por otra parte, en la TE puede haber fibrosis reticulínica focal y además no es fácil diferenciarla de la fase celular de la mielofibrosis con trombocitosis. Por ello decidimos evaluar estos factores en la TE.

En pacientes con TE sin tratamiento los niveles plasmáticos de los factores relacionados con la proliferación de fibroblastos se hallaron aumentados significativamente con respecto a los controles normales. En cambio, los valores intraplaquetarios fueron variables con respecto a los normales, los niveles del TGF β estuvieron normales, los del bFGF aumentados y del PDGF disminuidos. Durante la normalización del número de plaquetas por el tratamiento los niveles plasmáticos del bFGF y del PDGF tendieron a la normalización, sugiriendo que las variaciones de estos factores podrían estar en relación con el número de plaquetas. En cambio, la persistencia del aumento del TGF- β en plasma y del bFGF en plaquetas sugieren la existencia de una desregulación de su síntesis³⁷.

Bibliografía

- Colony-stimulating factors. Molecular and cellular biology. Ed. Garland JM, Queseberry PJ, Hilton DJ. Marcel Dekker, Inc. Second Edition. New York, 1997.
- Broudy VC, Lin NL, Kaushansky K. Thrombopoietin (c-mpl ligand) acts synergistically with erythropoietin, stem cell factor, and interleukin-11 to enhance murine megakaryocyte colony growth and increases megakaryocyte ploidy in vitro. *Blood* 1995; 85: 1719-26.
- Liu WL, Wang M, Tang DC, Ding I, Rodgers G. Thrombopoietin has a differentiative effect on late-stage human erythropoiesis. *Br J Haematol* 1999;105: 459-69.
- Emmons RVB, Reid DM, Cohen RL, Meng G, Young NS, Dunbar CE, Shulman NR. Human thrombopoietin levels are high when thrombocytopenia is due to megakaryocyte deficiency and low when due to increased platelet destruction. *Blood* 1996; 87: 4068-71.
- Fiedler PJ, Gurney AL, Stefanich E, Marian M, Moore MW, Carver-Moore K, de Sauvage FJ. Regulation of thrombopoietin levels by c-mpl-mediated binding to platelets. *Blood* 1996; 87: 2154-61.
- Gewirtz AM, Zhang J, Ratajczak J, Ratajczak M, Park KS, Li C, Yan Z, Poncz M. Chemokine regulation of human megakaryocytopoiesis. *Blood* 1995; 86: 2559-67.
- Rusten LS, Jacobsen EW. Tumor necrosis factor (TNF)- α directly inhibits human erythropoiesis in vitro: role of p55 and p75 TNF receptors. *Blood* 1995; 85: 989-96.
- Schwartz ER, Mandó OG, Maiztegui JI, Vilches AM. Síntomas y signos iniciales de mayor valor diagnóstico en la fiebre hemorrágica argentina. *Medicina* 1970; 30 (Supl 1): 8-14.
- Molinas FC, de Bracco MME, Maiztegui JI. Coagulation studies in Argentine hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1981;143: 1-6.
- Molinas FC, de Bracco MME, Maiztegui JI. Hemostasis and the complement system in Argentine hemorrhagic fever. *Rev Infect Dis* 1989; 11 (Suppl 4): 762-70.
- Cummins D, Molinas FC, Lerer G, Maiztegui JI, Faint R, Machin SJ. A plasma inhibitor of platelet aggregation in patients with Argentine hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 42: 470-5.
- Heller MV, Marta RF, Sturk A, Maiztegui JI, Hack CE, ten Cate JW, Molinas FC. Early markers of blood coagulation and fibrinolysis activation in Argentine hemorrhagic fever. *Thromb Haemost* 1995; 73: 368-73.
- Ponzinibbio C, Gonzalez PH, Maiztegui JI, Laguens RP. Estudio morfológico de la médula ósea humana en fiebre hemorrágica argentina. *Medicina* 1979; 34: 441-6.
- de Bracco MME, Rimoldi MT, Cossio PM, Rabinovich A, Maiztegui JI, Carballal G, Arana RM. Argentine hemorrhagic fever. Alterations of the complement system and anti-Junin virus humoral response. *N Engl J Med* 1978; 229: 216-21.
- Marta RF, Montero VS, Molinas FC. Systemic Disorders in Argentine hemorrhagic fever. *Bull Inst Pasteur*.1998; 96: 115-24.
- Levis SC, Saavedra MC, Ceccoli C, Falcoff E, Feuillede MR, Enria D, Maiztegui JI, Falcoff R. Endogenous interferon in Argentine hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1984; 149: 428-33.
- Ferbus D, Saavedra MC, Levis S, Maiztegui JI, Falcoff R. Relation of endogenous interferon and high levels of 2'-5' oligoadenylate synthetase in leukocytes from patients with Argentine hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1988;157: 1061-4.
- Heller MV, Saavedra MC, Falcoff R, Maiztegui JI, Molinas FC. Increased TNF-alpha levels in Argentine hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1992; 166: 1203-4.
- Marta RF, Enria D, Molinas FC. Factores de crecimiento hematopoyéticos y citoquinas en la Fiebre hemorrágica argentina. *Medicina* 1996; 56: 601.
- Marta RF, Montero VS, Hack CE, Sturk A, Maiztegui JI, Molinas FC. Proinflammatory cytokines and elastase alpha1-antitrypsin in Argentine hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60: 85-9.
- Murphy S, Peterson P, Iland H, Lazlo J. Experience of the polycythemia vera study group with essential thrombocythemia: a final report on diagnostic criteria, survival, and leukemic transition by treatment. *Sem Haematol* 1997; 34: 29-39.
- Aviram A, Blickstein D, Stark P, Luboshitz J, Bairey O, Prokocimer M, Shaklai M. Significance of bcr-abl transcripts in bone marrow aspirates of Philadelphia-negative essential thrombocythemia patients. *Leukemia Lymphoma* 1999; 33: 77-82.
- Hackwell S, Ross F, Cullis JO. Patients with essential thrombocythemia do not express bcr-abl transcripts. *Blood* 1999; 93: 2420-1.
- Fialkow PJ, Faguet GB, Jacobson RJ. Evidence that essential thrombocythemia is a clonal disorder with origin in a multipotent cell. *Blood* 1981; 58: 916-9.
- El-Kassar 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.
- Neri A, Fracchiolla NS, Radaelli F, Boletini A, Rivera S, Migliorini C, Tracca D, Maoilo AT. p53 tumor suppressor gene and RAS oncogenes: molecular analysis in the chronic and leukemic phases of essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 1996; 93: 670-3.
- Gaidano G, Pastore C, Santini V, Nomdedeu J, Gamberti B, Capello D, Vischia F, Resegotti L, Mazza U, Rossi Ferrini P, Lo Coco F, Saglio G. Genetic lesions associated with blastic transformation of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Genes Chromosomes Cancer* 1997; 19: 250-5.

28. 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. *Brit J Haemat* 1995; 90: 326-31.
29. Li J, Xia Y, Kuter DJ. Interaction of thrombopoietin with the platelet c-mpl receptor in plasma: binding, internalization, stability and pharmacokinetics. *Br J Haemat* 1999; 106: 345-56.
30. Taksin AL, Le Couedic JP, Dusanter-Fourt I, Massé A, Giraudier S, Katz A, Wendling F, Vaichenker W, Casadevall N, Debili N. 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.
31. Marta RF, Vassallu P, Kornblihtt LI, Molinas FC. Plasmatic levels of cytokines and growth factors in essential thrombocythemia. *Br J Haemat* 1998; 102: 31.
32. Marta RF, Kornblihtt L, Pirola C, Lev P, Molinas FC. Niveles de expresión y proteica de receptor soluble de interleukina-6 en pacientes con trombocitemia esencial. *Medicina* 1998; 58: 577.
33. Castro-Malaspina H, Rabellino EM, Yen A, Nachman RL, Moore MA. Human megakaryocyte stimulation of proliferation of bone marrow fibroblasts. *Blood* 1981; 57: 781-7.
34. Martyré M-C, Romquin N, Le Bousse-Kerdiles MC, Chevillard S, Benyahia B, Dupriez B, Demory JL, Bauters F. Transforming growth factor- β and megakaryocytes in the pathogenesis of idiopathic myelofibrosis. *Brit J Haemat* 1994; 88: 9-16.
35. Le Bousse-Kerdiles MC, Chevillard S, Charpentier A, Romquin N, Clay D, Smadja-Joffe F, Praloran V, Dupriez B, Demory JL, Jasmin C, Martyré M-C. Differential expression of transforming growth factor- β , basic fibroblast growth factor, and their receptors in CD34+ hematopoietic progenitor cells from patients with myelofibrosis and myeloid metaplasia. *Blood* 1996; 88: 4534-46.
36. Martyré M-C, Le Bousse-Kerdiles MC, Romquin N, Chevillard S, Praloran V, Demory JL, Dupriez B. Elevated levels of basic fibroblast growth factor in megakaryocytes and platelets from patients with idiopathic myelofibrosis. *Brit J Haemat* 1997; 97: 441-8.
37. Lev P, Marta R, Barredo S, Molinas FC. Niveles plasmáticos e intraplaquetarios de factores de crecimiento en trombocitemia esencial. *Medicina* 1998; 58: 577.