

Factores de Crecimiento Leucocitario. Uso Terapéutico

Introducción

Los Factores de crecimiento leucocitario forman parte de un grupo de moléculas que reciben el nombre genérico de citoquinas hemopoyéticas.

Las citoquinas hemopoyéticas (Tabla 1) comprenden a un grupo de moléculas polipeptídicas que juegan un rol central en la regulación de la proliferación, diferenciación y actividad biológica de las células hemopoyéticas y del sistema inmune¹⁻³.

Sobre la base del sistema de ensayo donde se las detectó, las citoquinas han sido divididas en grupos tales como: factores de crecimiento⁴, interleuquinas⁵, interferones⁶ y factor de necrosis tumoral⁷, entre otros.

Estas moléculas son usualmente polipéptidos glicosilados y sus efectos han sido bien caracterizados en cultivos celulares *in vitro*⁸, pero sus efectos *in vivo* son más difíciles de determinar

TABLA 1:

Citoquinas involucradas en la regulación del proceso hemopoyético y el sistema inmunológico.

GRUPO	NOMBRE	SIGLA
Factores de crecimiento	Factor estimulante de colonias de granulocitos - macrófagos Factor estimulante de colonias de monocitos-macrófagos Factor estimulante de colonias de granulocitos Factor estimulante del stem cell	GM-CSF M-CSF G-CSF SCF
	Eritropoyetina	Epo
Interleuquinas	Interleuquina 1 Interleuquina 2 Interleuquina 3 Interleuquina 4 Interleuquina 5 Interleuquina 6 Interleuquina 7 Interleuquina 8 Interleuquina 9 Interleuquina 10 Interleuquina 11	IL1 IL2 IL3 IL4 IL5 IL6 IL7 IL8 IL9 IL10 IL11
Interferones	Interferon alfa Interferon beta Interferon gamma	IFN *
Factores de necrosis tumoral	Factor de necrosis tumoral alfa Factor de necrosis tumoral beta	TNF * TNF *

(*) Profesora titular de la Cátedra Nº 1 de Fisiología Humana
Facultad de Medicina de la UNNE
Moreno 1240. 3400. CORRIENTES
Catedra Nº 1 de Fisiología Humana
Facultad de Medicina de la UNNE

debido a que algunas de ellas tienen funciones sobre múltiples células hemopoyéticas y, es común que ejerzan actividades sinergísticas⁹. Además, algunas citoquinas ejercen efectos pleiotrópicos que comprenden a diversos aspectos de la maduración y función de los leucocitos maduros¹⁰. Los lugares de síntesis de las citoquinas hemopoyéticas están aún definiéndose, pero se ha demostrado que las células endoteliales, los fibroblastos, los monocitos-macrófagos y linfocitos T, entre otros, son fuentes de producción de las mismas¹¹. Se estima que las citoquinas podrían actuar en forma local, como secreciones paracrinas o yuxtarcrinas¹² y en ese aspecto, la eritropoyetina, producida a nivel renal¹³, sería una excepción.

Inicialmente el estudio de las citoquinas estuvo limitado por las muy bajas concentraciones en que se hallan en los tejidos humanos. Sin embargo, las nuevas tecnologías en bioquímica, biología molecular e ingeniería genética permitieron su obtención en grandes cantidades como moléculas recombinantes abriendo la posibilidad de su uso en ensayos terapéuticos clínicos.

En esta revisión nos referiremos específicamente a los factores de crecimiento hematopoyéticos que ejercen su efecto sobre la leucopoyesis mieloide y que están disponibles para uso en terapéutica clínica: Factor estimulante de colonias de granulocitos - macrófagos recombinante humano (rhGM-CSF) y Factor estimulante de colonias de granulocitos recombinante humano (rhG-CSF).

GM-CSF recombinante humano (rhGM-CSF)

El rhGM-CSF recombinante humano es un polipéptido altamente purificado, no glicosilado, obtenido mediante el agregado del gen de GM-CSF a una cepa de laboratorio de *Escherichia coli*¹⁴.

La molécula nativa de GM-CSF, es una glicoproteína de 144 aminoácidos que ha sido aislada con distintos grados de glicosilación con peso molecular entre 14 a 35 kD¹⁵.

El análisis de la actividad biológica en moléculas recombinantes ha mostrado la presencia de dos regiones críticas ubicadas entre los residuos 21-31 y 77-96 de la cadena polipeptídica. Receptores de alta afinidad para GM-CSF se encuentran en número de 50 a 100 en las células precursoras mieloideas, mientras que su número es mayor (entre 500 a 700) en los neutrófilos y eosinófilos circulantes en sangre periférica¹⁶. Se conoce poco acerca del mecanismo de acción de GM-CSF unido a su receptor, pero se estima que actúa a través de la fosforilación de proteínas¹⁷.

Farmacocinetica de rhGM-CSF

Los estudios farmacocinéticos mostraron una vida media de eliminación de rhGM-CSF de 12 a 72 minutos cuando la droga se administra en dosis de 3 ug/kg en un bolo intravenoso; y de 36 minutos a 9,1 horas cuando se administran 3 a 30 ug/kg en infusión venosa continua durante 30 minutos¹⁸.

La administración en un bolo de rhGM-CSF en dosis símbolo 179 μ g "Symbol" \times 12.3 ug/kg por vía subcutánea produce una concentración sérica de la droga superior a 1 ng/ml, mantenida de 8 a 24 horas.

Aunque el esquema ideal de administración de rhGM-CSF aún no ha sido establecido para la mayoría de sus indicaciones terapéuticas, los datos farmacológicos disponibles parecen indicar la preferencia por la vía subcutánea, ya que produce niveles plasmáticos más bajos (en relación a la dosis), y un efecto hematológico similar con dosis menores, comparada a la vía intravenosa¹⁹.

Los datos farmacocinéticos de esta droga son complejos debido a la producción endógena de la misma y a que aún

no están aclarados sus mecanismos de eliminación.

Indicaciones

-En pacientes que reciben quimio-terapia antineoplásica standard, para disminuir la severidad de la neutropenia que desarrollan²⁰.

-En pacientes con transplante de médula ósea, para acelerar la recuperación de las células progenitoras mieloideas²¹.

-Como adyuvante en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida que han desarrollado una retinitis por citomegalovirus y que están recibiendo ganciclovir como terapia antiviral²².

Actividad biológica de la molécula nativa de GM-CSF

GM-CSF actúa como factor de crecimiento sobre las líneas celulares medulares que producen neutrófilos, eosinófilos, monocitos- macrófagos, megacariocitos y eritrocitos²³.

También es necesaria su presencia para una normal actividad biológica de neutrófilos, eosinófilos y monocitos-macrófagos maduros. En los monocitos - macrófagos estimula la producción de interleuquina 1 y factor de necrosis tumoral²⁴.

Efecto farmacológico de rhGM-CSF

Estudios de Fase I de ensayos clínicos con rhGM-CSF en pacientes neoplásicos (que no involucraban al tejido mieloide) bajo tratamiento quimioterápico, han mostrado que su administración subcutánea durante 10 días, disminuye la severidad y acorta la duración de la neutropenia que desarrollan estos pacientes. Adicionalmente, reduce los episodios febriles y mucositis²⁵.

En transplante autólogo de médula ósea, rhGM-CSF aceleró la recuperación

ción de los neutrófilos y aumento el número de progenitores hematopoyéticos en sangre circulante²¹. En pacientes con SIDA que desarrollaron sarcoma de Kaposi, y que recibían zidovudine e interferón alfa como terapéutica, la administración de rhGM-CSF revirtió la neutropenia, manteniendo el número de neutrófilos periféricos en alrededor de $1,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ ²⁶.

Dosis y vía de administración

- rhGM-CSF disponible para uso terapéutico: Molgramostim (rhGM-CSF). Nombre comercial: Leucomax.

En pacientes neoplásicos bajo tratamiento quimioterápico se aconseja iniciar su administración subcutánea en dosis de 5 a 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, 24 horas después de la última dosis de quimioterápico, durante un período de 7 a 10 días. (El rhGM-CSF debe administrarse 1 día después de terminada la administración del quimioterápico porque las células mieloideas que entran en ciclo por acción del factor de crecimiento se vuelven sensibles a la acción de los quimioterápicos citotóxicos).

La dosis inicial puede ser de 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ y se aconseja una administración de 3 - 5 días de la misma, antes de cambiarla para su ajuste.

En pacientes con trasplante de médula ósea se aconseja el uso de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ en infusión intravenosa de 4 a 6 horas, durante un máximo de 30 días. La infusión de la droga debe iniciarse el día siguiente al del trasplante. La dosis debe continuarse hasta alcanzar un conteo de neutrófilos de $1 \times 10^3/\mu\text{L}$. Como adyuvante en pacientes con SIDA que han desarrollado una retinitis por citomegalovirus y que están recibiendo ganciclovir, dosis de 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, vía SC, durante 5 días. A partir de la 5a administración se verificará la dosis buscando mantener un conteo de neutrófilos en sangre periférica de $1 \times 10^3/\mu\text{L}$.

Efectos indeseables

Un efecto indeseable es la propensión del rhGM-CSF por sí mismo de producir fiebre.

Otros efectos frecuentes son: náusea, diarrea, vómitos, anorexia, disnea, fatiga, astenia, rash eritematoso, reacción en el sitio de la inyección cuando la administración es subcutánea, dolores músculo-squeléticos, disminución de plaquetas, hipoalbuminemia y aumento de eosinófilos en sangre periférica.

Efectos indeseables menos frecuentes son: estomatitis, dolor de pecho, dolor abdominal, mialgias, pares-tesias, dolor de cabeza, prurito, edema periférico. Raramente puede producir reacciones severas tales como: anafilaxia, broncoespasmo, insuficiencia cardíaca, accidentes cerebrovasculares, convulsiones, confusión, hipotensión, arritmias cardíacas, hipertensión endocraneana, edema pulmonar y síncope.

Se han detectado anticuerpos por administración de rhGM-CSF de importancia clínica aún desconocida.

No se aconseja su administración durante el embarazo y la lactancia.

Controles

Durante su administración se deben realizar controles de: conteo absoluto y diferencial de leucocitos, conteo de plaquetas y nivel sérico de albúmina.

G-CSF recombinante humano (rhG-CSF)

El G-CSF recombinante humano (rhG-CSF) es una proteína altamente purificada, no glicosilada, obtenida mediante la introducción del gen de G-CSF en una cepa de laboratorio de *Escherichia coli*²⁷.

La molécula nativa de G-CSF es una glicoproteína de 174 aminoácidos con un peso molecular de 18-22 kD.

Es producida por células endoteliales, fibroblastos y monocitos-macrófagos¹¹.

Los receptores de G-CSF están distribuidos en los progenitores medulares del granulocito neutrófilo y en la célula madura circulante. La señal de transducción de la unión G-CSF-receptor es poco conocida²⁸.

Farmacocinética del rhG-CSF

Los estudios farmacocinéticos han demostrado una vida media de eliminación de rhG-CSF no glicosilado de 1,3 a 7,2 horas cuando se administran dosis de 3 a 60 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, por infusión intravenosa de 20-30 minutos, con un pico de concentración sérica de 600 ng/ml ^{29,30}.

Se ha observado una correlación lineal positiva entre la dosis y la concentración sérica de rhG-CSF, tanto en administración sc como iv³¹.

Los niveles séricos de la droga permanecen por encima de 10 ng/ml , durante 10 a 16 horas, después de una dosis única sc standard.

El aclaramiento de rhG-CSF sigue una farmacocinética de eliminación de primer orden tanto en administración sc como iv con una vida media de eliminación en el suero es de 3,5 horas promedio.

Indicaciones

En pacientes que reciben quimio-terapia antineoplásica standard (por neoplasias que no involucran al tejido mieloide) con neutropenia severa y febril: para aminorar la severidad de la neutropenia que desarrollan²⁹.

En neutropenias crónicas severas³².

Actividad biológica de la molécula nativa

G-CSF estimula la sobrevida, proliferación y diferenciación de progenitores medulares de los granulocitos neutrófilos permitiendo la formación de neutrófilos maduros funcionalmente activos, *in vitro*. Esta capacidad tam-

bién ha sido demostrada *in vivo*. Se estima que es necesaria la presencia de este factor de crecimiento a los efectos de mantener una normal actividad biológica de los neutrófilos maduros^{23,33}.

Efectos farmacológicos del rhG-CSF

Estudios de Fase I en sujetos normales y con cáncer avanzado, mostraron que la administración sc e iv de rhG-CSF produce una leucopenia transitoria, con nadir a los 5-15 minutos después de la administración iv y a los 30-60 minutos después de la administración sc^{30,34}. Luego se produce un sostenido aumento de la cantidad de neutrófilos circulantes en forma dosis-dependiente. Este aumento de neutrófilos circulantes se acompaña de la aparición de formas inmaduras en sangre periférica. La administración de >10 ug/kg/día se rhG-CSF también produce aumento de monocitos y linfocitos circulantes. Al interrumpirse la administración de rhG-CSF, los neutrófilos circulante caen a sus valores iniciales en 4-7 días³⁵.

La aplicación profiláctica de rhG-CSF fue beneficiosa en pacientes con cáncer de pulmón a células pequeñas que recibían quimioterapia standard, pues redujo la duración y severidad de la neutropenia y por ende, las infecciones, uso de antibióticos y hospitalización³⁴.

Por otro lado, pacientes con neutropenia congénita e idiopática que recibieron de 0,6 a 60 ug/kg/día de rhG-CSF, mantuvieron sus neutrófilos circulantes en alrededor de $1 \times 10^3/\mu\text{L}$ ³⁵.

Dosis y vía de administración

-rhG-CSF disponible para uso terapéutico: Filgrastim(G-CSF).

Nombre comercial: Neupogen.

La dosis de rhG-CSF para alcanzar una concentración normal de neutrófilos

circulantes varía substancialmente de 1 a 100 ug/kg/día, pero alrededor del 90% de los pacientes responden a dosis de 1 a 12 ug/kg/día³².

En pacientes que no presentan cuadros muy severos se recomienda iniciar la administración de esta droga con dosis bajas, en ciclos de 7 a 14 días, e ir ajustando la dosis hasta obtener una concentración de neutrófilos periféricos de 0,5 a $1,5 \times 10^3/\mu\text{L}$.

En neutropenias idiopáticas o cílicas (en niños y adultos) se recomienda usar 1 a 5 ug/kg/día.

En neutropenias congénitas se recomienda usar de 5 a 10 ug/kg/día (en una única aplicación o dividiendo la dosis en dos ó mas aplicaciones).

En pacientes con enfermedades más severas, se pueden utilizar 5 a 20 ug/kg/día, pero estas dosis aún no han sido estudiadas sistemáticamente.

Si el paciente ha recibido quimioterapia citotóxica, la dosis inicial debe administrarse 24 horas después de finalizada la administración de la quimioterapia.

La mayoría de los pacientes tratados con rhG-CSF han recibido la droga por vía sc diariamente, otros han recibido la droga en aplicaciones día por medio, o tres veces por semana en días alternados (este último esquema de aplicación ha mostrados ser satisfactorio)³².

La administración intravenosa por períodos largos de la droga, no ha sido evaluada.

La seguridad y eficacia de la administración crónica de Neupogen en pacientes que reciben quimioterapia mielosupresora aún no está establecida.

Existen estudios de mas de 200 pacientes que han recibido diariamente rhG-CSF durante mas de tres años que sugieren que la mayoría de los pacientes que son tratados con dosis estables de rhG-CSF no presentan evidencias de agotamiento de las células precursoras

rashematopoyéticas, cambios en otros tipos celulares sanguíneos, ni desarrollo de anticuerpos antirhG-CSF.

Efectos indeseables

Fiebre, dolor de cabeza, dolor, vasculitis, ulceraciones en lengua, estomatitis, dolor abdominal, dolores osteomusculares, disuria, diarrea, rash, linfadenopatía, celulitis, pústulas. Se presentan también como efectos indeseables: elevación reversible, dosis-dependiente de leve a moderada de la lactodeshidrogenasa, fosfatasa alcalina, ácido úrico sérico y gamma glutamyl transpeptidasa.

El rhG-CSF no aumenta la incidencia de los efectos indeseables de la quimioterapia citotóxica.

No se conocen las interacciones de rhG-CSF con otros factores de crecimiento hematopoyéticos o citoquinas ni los efectos de su sobredosificación.

Precauciones:

En pacientes con mielodisplasia y leucemia mieloide aguda o crónica porque se desconoce se rhG-CSF puede estimular el desarrollo tumoral.

No se aconseja su uso en embarazadas. No se conoce si el rhG-CSF se secreta en la leche de madres que están amamantando.

No están evaluados los efectos de rhG-CSF en pacientes con insuficiencia renal o hepática.

Si la droga produce un aumento de leucocitos a cifras de $50 \times 10^3/\text{L}$ debe interrumpirse su aplicación.

Controles:

Contaje de leucocitos que puede realizarse dos a tres veces por semana en las dos o tres primeras semanas de tratamiento, luego una vez por semana por dos meses y luego podría ser suficiente un control mensual.

BIBLIOGRAFIA

1. NEIDHART JA. Hematopoietic cytokines. *Cancer (Supp.)* 72:3381,1983.
2. MURPHY MJ. The hematopoietic cytokines: an overview. *Toxicol Pathol* 21:229,1993.
3. CLARK SC, KAMEN R. The human hematopoietic colony-stimulating factor. *Science* 236:1229,1987
4. NICOLA NA. Why do hemopoietic growth factor receptors interact with each other?. *Immunol Today* 8:134, 1987.
5. GREEN AR. Peptide regulatory factors: multifunctional mediators of cellular growth and differentiation. *Lancet* 1:705,1989.
6. KAMANO Y, TAKAUE Y, HIRAO A et al. Sinergistic effect of recombinant interferon and interleukin-3 on the growth of immature human hematopoietic progenitors. *Blood* 77:2118,1991
7. OSTER W, LINDEMANN A, HORN S et al. Tumor necrosis factor (TNF)-alpha but not TNF-beta induces secretion of colony-stimulating factor for macrophages (CSF₁) by human monocytes. *Blood* 70:1700, 1987.
8. METCALF D. The molecular control of cell division, differentiation, commitment and maturation in haemopoietic cells. *Nature* 359:27, 1987.
9. SACH L. The molecular control of blood cell development. *Science* 238:1374,1987.
10. CLARK SC. Biology and clinical applications of granulocyte colony-stimulating factor. In Murphy MJ (eds) Concise reviews in clinical and experimental hematology. AlphaMed Press, 1992.
11. MAYANI H, GUILBERT LJ, JANOWSKA-WIECROREK A. Biology of the hemopoietic microenvironment. *Europ J Haematol* 42:225, 1992
12. MASSAGUE J. Transforming growth factor. A model for membrane-anchored growth factor. *J Biol Chem* 265:21393, 1992.
13. BONDURANT MC, KOURY MJ. Anemia induces accumulation of erythropoietin mRNA in the kidney and liver. *Mol Cell Biol* 6: 2731, 1987
14. WONG GG, WITCK JS, TEMPLE PA ,et al. Human GM-CSF molecular cloning of the complementary DNA and purification of the natural and recombinant protein. *Science* 228: 810, 1985
15. ZSEBO KM, COHEN AM, MURDOCK DC, et al. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: molecular and biological characterization. *Immunobiol* 172: 175, 1986
16. DI PERSIO J, BILLING P, KAFMAN S. Characterization of the human granulocyte colony - stimulating factor receptor. *J. Biol Chem* 263: 1834, 1988
17. KANAKURA Y, DRUKER B, WOOS KW, et al. Granulocyte macrophage colony - stimulating factor and interleukin-3 induce rapid phosphorylation and activation of the proto-oncogene Raf-1 in human factor-dependent myeloid cell line. *Blood* 77: 243, 1991.
18. CEBON J, DEMPSEY P, FOX R, et al. Pharmacokinetics of human granulocyte-macrophage colony - stimulating factor using a sensitive immunoassay. *Blood* 72: 1340, 1988.
19. LIEBSCHKE GJ, BURGESS AW. Granulocyte colony - stimulating factor and granulocyte- macrophage colony - stimulating factor N Eng J Med 327: 28, 1992
20. GIANNI AM, BREGNI M, SIENA S et al. Recombinant human granulocyte-macrophage colony - stimulating factor reduces hematological toxicity and widens clinical applicability of high-dose cyclophosphamide treatment in breast cancer and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 8: 768, 1990.
21. BRANDT SJ, PETERS WP, ATWATER SK, et al. Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony - stimulating factor on hematopoietic reconstitution after high-dose chemotherapy and autologous marrow transplantation. *N Eng J Med* 318: 869, 1988.
22. HARDY WD. Combined ganciclovir and recombinant human colony - stimulating factor in the treatment of cytomegalovirus retinitis in AIDS patients. *J Adquir Immune Defic Syndr* 4 (Suppl 1): 522, 1991
23. CLARK SC, KAMEN R. The human hematopoietic colony - stimulating factor. *Science* 236: 1229, 1987.
24. WING EJ, MAGEE DM, WHITSIDE TL. Recombinant human granulocyte-macrophage colony - stimulating factor enhance monocyte cytotoxicity and secretion of tumor necrosis factor and interferon in patients with cancer. *Blood* 73: 643, 1989.
25. LIBSCHKE GJ, MAHER D, O' CONNOR M, et al. Phase I study of intravenously administered bacterially synthesized granulocyte macrophage colony - stimulating factor and comparison with subcutaneously administration. *Cancer Res* 50: 606, 1990.
26. SCADDEN DT, BERIG HAM LEVINE JD, et al. Granulocyte macrophage colony - stimulating factor mitigate the neutropenia of combined interferon alfa and zidovudine treatment of acquired immune deficiency syndrome-associated Kaposi's sarcoma *J.Clin Oncol*. 9: 802, 1991
27. NAGATA S, TSUCHIYA M, ASANO S, et al. Molecular cloning and expression of cDNA for human granulocyte colony - stimulating factor. *Nature* 319: 415, 1986.
28. DEMETRI GD, GRIFFIN JD. Granulocyte colony - stimulating factor and its receptor. *Blood* 78: 2791, 1991
29. MORSTYN G, CAMPBELL L, SOUZA LM, et al. Effect of granulocyte colony - stimulating factor on neutropenia induced by cytotoxic chemotherapy. *Lancet* 1: 667, 1988.
30. GABRILOVE JL, JAKUBOWSKY A, FAIN K et al .Phase I study of granulocyte colony - stimulating factor in patients with transitional cell carcinoma of the urothelium, *J Clin Invest* 82: 1454, 1988.
31. LINDEMANN A, HERRMANN F, OSTER W, et al. Hematological effects of recombinant human granulocyte v in patients with malignancy. *Blood* 74: 2644, 1989.
32. DALE DC. Hematopoietic growth factors for the treatment of severe chronic neutropenia. *Stem cell* 13: 94, 1995.
33. BARRIOS L, GURAL OA, ALTAMIRANO RO. Efecto del factor de crecimiento de granulocitos recombinante humano (rhG-CSFG) sobre la hematopoyesis de la rata normal *Acta Physiol Pharmacol Latinoam* 43, 90, 1993.
34. BROUNCHOUD MH, SCARFFE JH, THATCHER N et al. Phase I/II study of recombinant human granulocyte colony - stimulating factor in patients receiving intensive chemotherapy for small cell lung cancer. *Br J Cancer* 56: 809, 1987.
35. GANSER A, OTTMANN OG, ERDMANN H, et al. The effect of recombinant human granulocyte colony - stimulating factor in severe chronic neutropenia. *Ann Int Med* 111: 887, 1989.