

La utilización de los factores estimuladores de colonias para optimizar el tratamiento quimioterápico de tumores sólidos

Miguel Hernández-Bronchud

INTRODUCCION

El establecimiento de sistemas de cultivo *in vitro* para médula y sangre humana y de ratones, para células progenitoras hematopoyéticas, ha permitido reconocer muchas hormonas hemátópoyéticas que regulan la producción y diferenciación de las células sanguíneas. Estas glicoproteínas, conocidas como factores estimulantes de colonias e interleuquina, se han obtenido purificadas a partir de diversas fuentes. Los factores inicialmente purificados se denominaron de acuerdo con el principal tipo de colonia que estimulaban *in vitro*: M-CSF (macrófagos), G-CSF (granulocitos), GM-CSF (granulocitos, macrófagos y eosinófilos), Multi-CSF (o interleuquina3, IL-3) para varias líneas celulares hemopoyéticas (1-4). En 1991, la Food and Drug Administration (FDA) de los EE.UU. aprobó la utilización clínica de G-CSF recombinante humano para reducir la neutropenia, y las complicaciones secundarias al tratamiento con citotóxicos antitumorales; y aprobó el GM-CSF recombinante humano para acelerar la recuperación hematológica tras el trasplante de médula. Como el tema de nuestra disertación es "la optimización del tratamiento quimioterápico de tumores sólidos", nos centraremos fundamentalmente en la utilización del G-CSF recombinante.

Estudios recientes *in vitro*, del grupo de Ogawa (5-8) sugieren que el G-CSF puede actuar *in vitro* solo o en colaboración con otras citoquinas sobre progenitores pluripotenciales precoces, pero *in vivo* su actividad se centra fundamentalmente en los

precursores más inmediatos de los granulocitos neutrófilos. Aunque tanto el G como el GM-CSF aumentan la fagocitosis neutrofílica, promueven la formación de anión superóxido en presencia de péptidos quimiotácticos tales como f-met-leu-phe (fMLP), favorecen la unión específica de fMLP ya sea aumentando el número de receptores o la afinidad, potencian la liberación de ácido araquidónico en respuesta a agentes ionóforos y quimioattractivos múltiples, aumentan la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo de tumores diana, y aumentan la supervivencia *in vitro* de neutrófilos; el GM-CSF, pero no el G-CSF, aumenta la expresión de la molécula Mo-1 de adhesión a la membrana superficial e inhibe la migración de los neutrófilos (9-19).

El G-CSF es producido por células monocítico/macrofágicas y por fibroblastos y células endoteliales en respuesta a la IL-1, al TNF, y a las bacterias (20-25), pero (al contrario del GM-CSF) no es producido por los linfocitos T activados. También al contrario del GM-CSF, rara vez detectable en la circulación, los niveles de G-CSF pueden detectarse en voluntarios normales, y aumentan de forma espectacular durante los episodios infecciosos, volviendo a los valores normales tras la recuperación de la fase aguda de la enfermedad (26). Se ha purificado y caracterizado el G-CSF a partir de la línea celular de carcinoma vesical humano 5637, y posteriormente ha sido clonado molecularmente y expresado en *E. coli* (27, 28).

El G-CSF humano natural es una glicoproteína de 19.6 kD formada por una sola cadena

Dr. Miguel Hernández-Bronchud: M.R.C.P. DM. Barcelona, España.

polipeptídica codificada por un gen que se encuentra en el cromosoma 17q11-21. El G-CSF se une a una molécula receptora de cadena única (aunque también asociada a otra molécula receptora de baja afinidad) de 150.000 kD que se encuentra fundamentalmente en las células de estirpe neutrofilica y que está modulada por la interacción celular con otros factores de crecimiento (29-34). El G-CSF humano recombinante, expresado en *E. coli*, se diferencia del G-CSF nativo por la adición de una metionina N-terminal y la ausencia de glicosilación, resultando un peso molecular de 18.8 kD. El G-CSF humano también se ha aislado a partir de la línea de carcinoma de células escamosas CHU-2 y el gen ha sido clonado y expresado en células de tipo COS (35). Esta última molécula contiene tres codones adicionales que resultan en una molécula más larga que parece ser menos activa en la potenciación de la formación de colonias de granulocitos.

Diversos estudios han valorado los efectos hematopoyéticos del G-CSF a diferentes dosis. Frecuentemente, estos mismos pacientes han recibido un ciclo de quimioterapia subsiguiente seguido por la misma dosis de G-CSF. El G-CSF se administró entre 1 y 60 ($\mu\text{g/kg}$ de peso corporal) a 22 pacientes con carcinoma de células transicionales antes de quimioterapia como parte de la fase I/II del estudio (36). Se observó un aumento dosis dependiente en el recuento neutrofílico total de 1.8 a 12 veces. También se observó un aumento en la fosfatasa alcalina leucocitaria, la cual es un marcador de la formación secundaria de gránulos. En seis de los ocho pacientes analizados, se observó aumento de la relación mieloide/eritroide en la médula ósea. El día 14 las células de la sangre periférica demostraban un incremento en las CFU-GM, después de seis días de tratamiento con G-CSF. Los niveles circulantes de eosinófilos (al contrario de los efectos *in vivo* del GM-CSF) y basófilos no se alteraron; sin embargo, se observó un aumento de 10 veces en los monocitos de los pacientes tratados con las dosis más elevadas. Los linfocitos CD3+ mostraron un pequeño incremento en su número independiente de la dosis. La hemoglobina, el

hematocrito, y el recuento plaquetario se mantuvieron próximos a los valores basales a lo largo de todo el período de administración de G-CSF.

Doce pacientes con cáncer broncogénico de células pequeñas (CBCP) se trataron con el G-CSF humano recombinante administrado en infusión continua a dosis que variaban entre 1 y 40 $\mu\text{g/kg}$ diarios (10,37). Los pacientes recibían el G-CSF antes del inicio de la quimioterapia intensiva y después de ciclos alternos de quimioterapia. Se encontró que el G-CSF *in vivo* tenía dos efectos principales: una disminución precoz del recuento de neutrófilos periféricos en la primera hora, seguida por la rápida entrada de neutrófilos maduros al torrente circulatorio; y una estimulación de la proliferación y diferenciación de los precursores neutrofilicos en la médula ósea como se muestra por las siguientes observaciones: un incremento en la celularidad medular de 20%, con aumento en la relación mieloide/eritroide y un ligero incremento (8%) de la fase S de la CFU-GM. A pesar del aumento en la relación mieloide/eritroide, el CFU-GM/BFU-E (Burst Forming Unit) no cambia. Morstyn (38) en la fase I de sus estudios mostró que la mayor parte de la hipertrofia mieloide se encontraba a nivel de los promielocitos. Los neutrófilos liberados a la circulación resultaron ser normales en las pruebas de actividad motriz y fagocítica. Esto sugeriría que el principal efecto *in vivo* tiene lugar en las células mieloides tardías con potencial de proliferación, más que en las CFU-GM.

Se llevaron a cabo estudios más extensos en dos pacientes con cáncer metastásico de mama que eran tratadas con G-CSF (39); mediante marcación con timidina tritiada y autorradiografía en la médula durante el tratamiento. Se valoró la migración de los neutrófilos mediante marcación con mTc^{99} -hexametil propilenoaminaoxima tras la infusión de G-CSF. La proliferación estaba aumentada en todas las fases de la granulopoyesis, pero el aumento principal se encontraba en el compartimento de los mieloblastos. Las células marcadas aparecieron en la circulación al cabo de un día en vez de cuatro o cinco. Los estudios con mTc^{99} demostraron que no se producía secuestro

de los neutrófilos circulantes en el bazo, los pulmones o el hígado. La vida media de los neutrófilos circulantes no cambiaba de forma significativa, y los cálculos a partir del flujo de células marcadas en sangre periférica indicaban un aumento de 3.2 en los compartimentos de amplificación extra durante el desarrollo de los neutrófilos. La respuesta neutrofilica espectacular al G-CSF fue debida tan sólo a un ligero aumento de la actividad granulopoyética dentro del compartimento mieloide reconocible morfológicamente (39). Se observó un aumento en la LDH sérica y en menor grado, de la fosfatasa alcalina paralelamente con el aumento de los neutrófilos; pero no se observaron cambios en las plaquetas, la hemoglobina, los linfocitos, los monocitos o los eosinófilos.

Lindemann *et al*, administraron G-CSF (de 1 a 60 $\bar$ g/kg/diarios IV en 30 minutos) a 18 pacientes con neoplasia refractaria avanzada (40, 41). Se observó, en todos los estudios, un aumento dosis dependiente en los neutrófilos con un incremento promedio de 1.7 veces a 1 μ g, 2.7 a 3 μ g, 5.2 a 10 μ g, 7.3 a 30, y 11.5 a 60 μ g/kg con recuentos máximos que aparecían al cabo de una semana, y sin incrementos ulteriores o incluso con una ligera disminución al seguir el tratamiento. Los recuentos de neutrófilos volvieron a la línea de base anterior al tratamiento tres a seis días después de cesar la administración de G-CSF. No se observó ningún efecto en los reticulocitos. Las plaquetas tendían a disminuir (hallazgo poco usual en la fase I de otros estudios) en 20 a 40% en relación con los niveles anteriores al tratamiento, observándose un *nadir* alrededor del día décimo con aumento del volumen plaquetario medio y del factor IV plaquetario sérico, lo cual sugiere una destrucción acelerada con aumento compensador en la producción y liberación de plaquetas jóvenes. Resulta interesante que tras este *nadir* que se produce alrededor del día 10, el recuento de plaquetas se recuperó espontáneamente a pesar de la continuación del tratamiento. La fosfatasa alcalina y la LDH séricas aumentaron de forma paralela al recuento de neutrófilos. El único efecto tóxico fue la presencia de dolor óseo ligero a moderado generalmente de localización lumbar,

esternal y costal. En algunos pacientes fue transitorio y apareció durante la infusión del G-CSF. En otros, apareció al cabo de unos días de tratamiento, varias horas después de aplicada la infusión diaria de G-CSF y duró varias horas. También se observó sudoración y fatiga en algunos pacientes que recibían dosis más altas y se asociaban a recuentos muy elevados de neutrófilos.

En resumen, esta fase I de los estudios mostraba un aumento dosis dependiente en los granulocitos y, en algunos estudios a dosis más elevadas, aumento de los monocitos. La relación mieloide/eritroide medular se encuentra aumentada con sólo un pequeño incremento en la fase S del CFU-GM pero sin un incremento obvio del número en el interior de la médula. Los niveles de CFU-GM en sangre periférica se encuentran aumentados al máximo cinco a siete días después del inicio de la infusión. El efecto colateral predominante en la mayor parte de los estudios parece ser el dolor óseo. Otros efectos colaterales son poco frecuentes.

Estudios randomizados con quimioterapia y G-CSF

El primer estudio randomizado con quimioterapia y G-CSF fue publicado por Crawford (42) con el análisis de 126 de un total de 240 pacientes con carcinoma broncogénico de células pequeñas (CBCP). En este estudio, los pacientes fueron seleccionados al azar para recibir placebo o el tratamiento con G-CSF en forma de bolo subcutáneo 2.5 a 8 μ g/kg un día después del tratamiento con ciclofosfamida 1g/m², doxorubicina 50 mg/m², y etoposido 120 mg/m² por tres días (CAE) y se siguió administrando hasta el día 17 o hasta que el número de neutrófilos fuera superior a 10 x 10³/ul. En el primer ciclo, 32% de los pacientes del grupo tratado presentaron episodios febriles y 57% de los pacientes del grupo control. La duración de la granulocitopenia inferior a 1000ul fue de ocho días en el grupo control, y sólo de tres y medio días en el grupo tratado. Se observó una reducción de 50% en los días de hospitalización y de tratamiento antibiótico durante el primer ciclo. Sin embargo, si aparecía fiebre el protocolo se rompía

y durante el segundo ciclo los pacientes inicialmente tratados sin G-CSF recibían dosis idénticas de tratamiento pero con G-CSF; y a los pacientes que habían presentado fiebre con G-CSF se les redujo la dosis de G-CSF durante el segundo ciclo. El cruce del grupo control que desarrolló episodios febriles eliminó la posibilidad de tener que optar por la intensidad relativa a la dosis y la respuesta tumoral con o sin G-CSF.

Aunque son varias las publicaciones (43-49) que describen la presencia de receptores de membrana para CSF en líneas celulares de origen no hematológico, no se han descrito receptores funcionales en líneas celulares primarias derivadas de tumores pulmonares. En Europa, se realizó un segundo ensayo randomizado multicéntrico con G-CSF y quimioterapia CAE en pacientes con CBCP. En este estudio, cada vez que se observaba una neutropenia febril se abandonaban las condiciones de ciego del estudio, pero los pacientes control no recibían G-CSF en ciclos ulteriores de quimioterapia. Un análisis interino (Green, *et al* 1992, en prensa) confirma una reducción en la incidencia de neutropenia febril y la necesidad del uso de antibióticos IV de aproximadamente 50%, sin la presencia de efectos indeseables aparentes del G-CSF en la supervivencia de los pacientes o en la respuesta tumoral. En ambos estudios, se observó una tendencia a desarrollar trombocitopenia acumulativa, y esto se ha interpretado como un aumento en la intensidad de dosis recibida por el brazo tratado, aunque no puede excluirse todavía una inhibición relativa de la megacariocitopoyesis dentro del microambiente medular.

Utilización del G-CSF para aumentar la intensidad de la dosis

Para incrementar adicionalmente el valor terapéutico del G-CSF más allá de simplemente una medida general complementaria, el G-CSF debería hacer posible la utilización de dosis más elevadas de quimioterapia o de ciclos más cortos de quimioterapia a una intensidad tal que debería probar la mejoría en la velocidad de respuesta y en la supervivencia en comparación con el tratamiento convencional sin G-CSF.

Para valorar el posible aumento en la intensidad de la dosis, se administró G-CSF a 17 pacientes con cáncer de ovario y mama en estado avanzado (50). A continuación del tratamiento con doxorubicina a dosis de 75 mg/m² (n = 4 pacientes), 100 mg/m² (n = 5), 125 mg/m² (n = 6) y 150 mg/m² (n = 2), se administró G-CSF durante 11 días por vía intravenosa. Como siempre, la administración de G-CSF produjo un retorno del recuento de neutrófilos absoluto a los niveles normales o superiores a la normalidad dentro de los 12 a 14 días a todas las dosis utilizadas de doxorubicina y permitía la administración de hasta tres ciclos de quimioterapia a dosis elevadas con intervalos de 14 días. No se alcanzó un recuento de neutrófilos absoluto de 2500/ul hasta los días 19 a 21 tras la administración de doxorubicina a 75 mg/m² sin G-CSF. Con dosis de doxorubicina de 125 mg/m² y 150 mg/m², se observó una toxicidad epitelial importante y a pesar del favorecimiento de la recuperación neutrofílica los pacientes aún podían ser ingresados por presentar episodios febriles. Siguiendo una pauta de administración de 75 a 100 mg/m² cada dos semanas para tres ciclos, los pacientes empezaron a presentar una recuperación lenta, necesitaron transfusiones (cuatro de nueve pacientes) y presentaron episodios febriles (dos de nueve). Una dosis de 100 mg/m² durante cuatro semanas en comparación con las dosis acostumbrada de 75 mg/m² cada tres semanas, representa aproximadamente el doble de la dosis durante las primeras cuatro semanas de tratamiento. Con las dosis más elevadas, la mayoría de los pacientes necesitaron hospitalizarse para recibir medidas de soporte (incluyendo transfusiones profilácticas de plaquetas en cuatro de ocho pacientes), pero pudieron recibir 75 mg/m² de doxorubicina semanalmente (un aumento en 4.5 de la intensidad de la dosis) y todos los pacientes respondieron, con 50% de remisiones completas. Para poder recibir más de dos a tres ciclos de quimioterapia y, por lo tanto, una dosis acumulativa total superior, puede ser necesario llevar a cabo un procedimiento "partido" con el fin de dar el tiempo suficiente a la recuperación hematológica y epitelial tras los primeros dos o

tres ciclos. De manera alterna, este tratamiento intensificado breve, podría usarse como una buena citorreducción inicial y pasar entonces al tratamiento de "consolidación" (con células madres autólogas) o, especulando, tratamiento "de mantenimiento" con modificadores de la respuesta biológica en aquellas patologías sensibles a este tipo de tratamiento. La velocidad de respuesta en pacientes con cáncer avanzado de mama tratados con dosis elevadas, animó a los autores; pero el número de pacientes era demasiado pequeño para establecer cualquier conclusión firme.

Debería perfilarse en un estudio controlado la importancia de estas pequeñas graduaciones de la dosificación y la capacidad de los pacientes para recibir quimioterapia con más frecuencia, al menos durante un número menor de ciclos, dependiendo de la respuesta o la supervivencia. Estudios previos sobre aumentos de la dosis en casos de cáncer avanzado sugieren que las velocidades de respuesta están aumentadas pero no lo está necesariamente la supervivencia. Sin embargo, estos aumentos podrían ser significativos en la enfermedad micrometastásica, y en la capacidad potencial de administrar cursos cortos pero eficaces de quimioterapia coadyuvante (p. ej., dos meses de tratamiento en lugar de los seis meses convencionales), que beneficiarían tanto a los pacientes como a los hospitales oncológicos.

Los factores recombinantes de crecimiento se están probando de forma intensiva para modificar la toxicidad hematopoyética de los tratamientos a dosis elevadas que causan neutropenia absoluta y prolongada, generalmente incompatible con la supervivencia, a menos que se rescate al paciente con médula ósea. Estos tratamientos varían en su efecto ablativo medular presentando un potencial distinto para la recuperación de las tres estirpes celulares sin infusión medular. Sin embargo, es característica común que el CFU-GM, o su progenitor y las células mieloides proliferativas más maduras se encuentren casi o totalmente depletadas unos días después de la administración del tratamiento. Los estudios analizados previamente con factores recombinantes de crecimiento, y que describen una modificación en la toxicidad de la

quimioterapia, presentan en una minoría de pacientes sin el factor recombinante, como máximo un período de sólo dos o tres días sin recuentos granulocíticos mensurables. La duración del tratamiento con dosis elevadas es más prolongada y los episodios febriles más generalizados. La utilización de G-CSF y GM-CSF tras el trasplante de médula autóloga favorece marcadamente la parte final de la recuperación de los granulocitos. Sin embargo, los episodios febriles no disminuyen en forma significativa, y los días febriles son ligeramente diferentes debido a la modificación mínima en la duración de la neutropenia absoluta o del impacto en el momento que aparece por primera vez un neutrófilo.

El número de precursores mieloides infundidos tras el trasplante de médula ósea autóloga (TAMO) con G-CSF es de importancia para la recuperación de los granulocitos. Para potenciar aún más la recuperación, es probablemente necesario infundir un número significativamente mayor de células precursoras (51, 52). Es importante comprender desde el punto de vista conceptual que la velocidad de recuperación neutrofílica precoz se relaciona con el número de CFU-GM infundidas en médula autóloga. La recuperación de neutrófilos es más rápida cuando se infunde un número mayor de CFU-GM. Primero se ha demostrado en un modelo mieloablativo que es necesario un número mínimo de CFU-GM para prevenir la neutropenia prolongada y de riesgo vital ($1 - 2 \times 10^4$ CFU-GM/kg). Sin embargo, la velocidad y el número de CFU-GM infundidas no guardan una relación lineal. Desgraciadamente se trata de una relación logarítmica (52). Debido a las limitaciones en la cantidad de médula que puede obtenerse, el número de CFU-GM medulares máximo normal se sitúa alrededor de 15×10^4 /kg. Estos son pequeños incrementos de los CFU-GM en los pacientes ideales que están por encima de la media (inferior a una unidad de logaritmo); y no es sorprendente que con el uso de TAMO con o sin factor de crecimiento la duración más corta por debajo de 100 neutrófilos sea de siete a nueve días. Otros enfoques para el inicio de la recupera-

ción precoz de granulocitos hasta el nivel crítico de 100 (aparte de la médula ósea y el factor de crecimiento solamente) han constituido un motivo de interés principal en la investigación clínica en los últimos años. Se ha hecho hincapié en el concepto de sembrar un mayor número de células precursoras de sangre periférica para la acción ulterior del factor de crecimiento tras su reinfusión.

En un número limitado de pacientes, se observa una mejor recuperación hematopoyética con el uso de células mononucleares obtenidas por aféresis, a medida que los pacientes empiezan a recuperar rápidamente sus niveles de leucocitos, monocitos y plaquetas tras la neutropenia del tratamiento mielotóxico. Se discute que este hecho esté relacionado con la obtención de una cantidad mayor de CFU-GM (53, 54). Se ha documentado que tanto el GM como G-CSF movilizan los precursores a la sangre periférica (55-57).

Es aún más interesante la sugerencia de la recuperación hematopoyética incluso más rápida tras la obtención de células de sangre periférica que sigue a la administración de dosis elevadas de ciclofosfamida (7 g/m^2) y GM-CSF, y su uso ulterior con médula ósea (54). Tras dosis elevadas de melfalan® con o sin irradiación corporal total, en pacientes sin tratamiento previo, la infusión precoz de médula y de células de sangre periférica puede mejorar casi totalmente la neutropenia absoluta. En cambio, Peters (58) obtuvo células de sangre periférica tres veces tras cuatro días de G-CSF o GM-CSF y lo combinó con infusión medular y factor de crecimiento. La duración de la neutropenia absoluta aún era de siete días, pero la leucopenia, la mortalidad y la morbilidad se redujeron en comparación con los datos históricos. Sheridan también añadió sangre periférica obtenida tras la infusión de G-CSF a ABMT y médula, y demostró que la recuperación de los neutrófilos era idéntica al experimento histórico de médula y G-CSF sin la adición de sangre periférica, los mismos aproximadamente siete inamovibles días de neutropenia absoluta, aunque se favoreció la recuperación de plaquetas (59).

No hay ninguna indicación de que el factor de crecimiento sea esencial a la hora de suministrar un componente vital de la sangre periférica que favorezca la recuperación de plaquetas.

Ventura *et al* (60) y Spitzer *et al* (comunicación personal) obtuvieron células de sangre periférica durante el ascenso de neutrófilos que sigue a la neutropenia inducida por la ciclofosfamida y la adriamicina a dosis de 3 g/m^2 y 50 mg/m^2 y la administración de GM-CSF un día tras la quimioterapia a dosis de $0,6 \text{ g/m}^2$, en infusión continua durante cuatro horas. Antes de que esto sucediera, se obtuvo médula de pacientes y se dividió en dos partes iguales. Para determinar si las células de sangre periférica obtenidas de esta manera aceleraban la primera fase de la recuperación de neutrófilos, Ventura *et al* valoraron su efecto sobre la recuperación hematopoyética, al administrarla con médula ósea y factores de crecimiento. Durante el primer ciclo, administraron a los pacientes médula y GM-CSF tras ciclofosfamida $5,25 \text{ g/m}^2$, etopósido 1200 mg/m^2 y cisplatino 165 mg/m^2 (CVP). Durante el segundo ciclo y exactamente a la misma dosis, añadieron sangre periférica a la infusión de médula postquimioterápica y factor de crecimiento para ver si ello favorecía la recuperación en comparación con médula y factor de crecimiento solos. Así pues, el primer ciclo hacía las funciones de control interno.

En ningún paciente se alteró el tiempo promedio de recuperación a un RAN de 100 por la adición de sangre periférica. Esto es, el período de recuperación precoz se mantuvo en seis a ocho días. La parte terminal de la recuperación (hasta 500 granulocitos) se desvió mínimamente, pero la diferencia no era significativa desde el punto de vista clínico. El número total de infecciones documentadas no se redujo en el segundo ciclo, y los pacientes permanecieron febriles durante aproximadamente siete días en cada ciclo. El promedio de duración de la trombocitopenia (<20.000 y 50.000) se redujo de forma significativa tras la infusión de células de sangre periférica. Estos estudios plantean muchas cuestiones que podrían contestarse con un ensayo clínico com-

parativo. Lo más importante, ¿contribuyen realmente GM-CSF o G-CSF a la mejoría de la calidad de la leucoforesis sobre el estado estacionario o tras el uso de quimioterapia aislada? ¿cuál, en caso de haber alguna, es la mejor estrategia para obtener una cantidad suficiente de células precursoras para reducir de manera regular el período de neutropenia a sólo unos pocos días de duración necesarios para prevenir la mayor parte de los episodios febriles y las infecciones?

Quedan por explorar otras técnicas de movilización de células precursoras. Los modelos preclínicos de combinaciones de factores de crecimiento, interleuquina 3 y GM-CSF sugieren que este enfoque o bien es de eficacia intermedia entre la quimioterapia sola y rhGM-CSF, o equivalente a la quimioterapia sola. Este método provoca aumentos del orden de 50 a 100 veces en el CFU-GM de sangre periférica en los primates (61). Los CFU-GM también aumentan de forma importante tras el tratamiento con interleuquina-2 (62). En los próximos años se valorará cuidadosamente la posibilidad de que algunas de estas técnicas causen una mejoría en el número de células adecuadas o de células necesarias para la recuperación hematopoyética rápida en comparación con los enfoques que se están utilizando actualmente. También se espera que la utilización de factores más pluripotentes (como el factor de células stem), contribuya a facilitar este tipo de terapias.

REFERENCIAS

1. Cannistra SA, Griffin JD. Regulation of the production and function of granulocytes and monocytes. *Seminars in Hematology*, 1988; 25: 173-188.
2. Metcalf D. The colony stimulating factors. Discovery, development, and clinical applications. *Cancer* 1990; 65: 2185-2195.
3. Moore MAS, Welta K, Gabrilove J, Souza LM. Biological Activities of Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor (rhG-CSF) and Tumor Necrosis Factor: In vivo and In Vitro Analysis. *Hematology and Blood Trans* 1987; 31: 210-220.
4. Lee MT, Kaushansky K, Ralph P, Ladner MB. Differential expression of M-CSF, G-CSF, and GM-CSF by human monocytes. *J Leukoc Biol* 1990; 47:275-282.
5. Ikebuchi K, Clark SC, Ihle JN, Souza LM, Ogawa M. Granulocyte colony-stimulating factor enhances interleukin 3 dependent proliferation of multipotential hemopoietic progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 3445-344
6. Ikebuchi K, Ihle JN, Hirai Y, Wong GG, Clark SC, Ogawa M. Synergistic factors for stem cell proliferation: Further studies of the target stem cells and the mechanism of stimulation by interleukin-1, interleukin-6, and granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1988; 72:2007-2014.
7. Kiski K, Ellingsworth LR, Ogawa M. The suppressive effects of type transforming growth factor (TGF) on primitive murine hemopoietic progenitors are abrogated by interleukin-6 and granulocyte colony-stimulating factor. *Leukemia* 1989; 3: 687-691.
8. Ogawa M. Effects of hemopoietic growth factors on stem cells in vitro. *Hematol Oncol Clin North Amer* 1989; 3: 453-464.
9. Nathan CF. Respiratory burst in adherent human neutrophils: Triggering by colony-stimulating factors CSF-GM and CSF-G. *Blood* 1989; 73: 301-306.
10. Bronchud MH, Potter MR, Morgenstern G, Blasco MJ, Scarffe JH, Thatcher N, Crowther D, Souza LM, Alton NK, Testa NG, Dexter TM. In vitro and in vivo analysis of the effects of recombinant human granulocyte colony stimulating factor in patients. *Br J Cancer* 1988; 58: 64-69.
11. Wang JM, Chen ZG, Colella S, Bonilla MA, Welte K, Bordignon C, Mantovani A. Chemotactic activity of recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *Blood* 1988; 72: 1456-1460.
12. Ohsaka A, Kitagawa S, Sakamoto S, Miura Y, Takanashi N, Takafu F, Saito M. In vivo activation of human neutrophil functions by administration of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients with malignant lymphoma. *Blood* 1989; 74: 2743-2748.
13. Kaplan SS, Basford RE, Wing EJ, Shadduck RK. The Effect of Recombinant Human Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor on Neutrophil Activation in Patients with Refractory Carcinoma. *Blood* 1989; 73: 636-638.
14. Peters WP, Stuart A, Affronti ML, Kim CS, Coleman RE. Neutrophil Migration if Defective During Recombinant Human Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Infusion after autologous Bone Marrow Transplantation in Humans. *Blood* 1988; 72:1310-1315.
15. Kitagawa S, Yuo A, Souza LM, et al. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor enhances superoxide release in human granulocytes stimulated by the chemotactic peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 144: 1143-1146.
16. Baldwin GC, Fuller ND, Robert RL, Ho DD, Golde DW. Granulocyte- and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors enhance neutrophil cytotoxicity toward HIV- infected cells. *Blood* 1989; 74:1673-1677.
17. Wing EJ, Magee DM, Whiteside TL, Kaplan SS, Shadduck RK. Recombinant Human Granulocyte/Macrophage Colony-Stimulating factor Enhances Monocyte Cytotoxicity and Secretion of tumor Necrosis Factor and Interferon in Cancer Patients. *Blood* 1989; 73: 643-646.
18. Buckle AM, Hogg N. The effect of IFN-gamma on colony-stimulating factors on the expression of neutrophil cell membrane receptors. *J Immunol* 1989; 143:2295-2301.
19. Gamble JR, Rand TH, López AF, Clark-Lewis I, Vadas MA. Heterogeneity of Recombinant Granulocyte-Macrophage Colony-stimulating Factor-mediated Enhancement of Neutrophil Adherence to Endothelium. *Exp Hematol* 1990; 18: 897-902.
20. Zsebo KM, Wypych J, Yuschenkoff VN, Lu H, Hunt P, Dukes PP, Langley KE. Effects of hematopoietin-1 and interleukin 1 activities on early hematopoietic cells of the bone marrow. *Blood* 1988; 71: 962-968.
21. Zsebo KM, Yuschenkoff VN, Schiffer S, Chang D, McCall E, Dinarello CA, Brown MA, Altmann B, Bagby GC Jr. Vascular endothelial cells and granulopoiesis: Interleukin-1 stimulates release of G-CSF and GM-CSF. *Blood* 1988; 71: 99-103.
22. Fibbe WE, Van Damme J, Billiau A, Duinkerken N, Lurvink E, Ralph P, Altmann BW, Kaushansky K, Willemze R, Falkenburg JHF. Human fibroblasts produce granulocyte-CSF, macrophage-CSF, and granulocyte-macrophage-CSF following stimulating by interleukin-1 and poly(rI). poly(rC). *Blood* 1988; 72: 860-866.
23. Broudy VC, Kaushansky K, Segal GM, et al. Tumor necrosis factor type alpha stimulates human endothelial cells to produce granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 7467-7471.
24. Fibbe WE, Daha MR, Hiemstra PS, Duinkerken N, Lurvink E, Ralph P, Altmann BW, Kaushansky K, Willemze R, Falkenburg JHF. Interleukin 1 and poly(rI). poly(rC) induce production of

- granulocyte CSF, macrophage CSF, and granulocyte-macrophage CSF by human endothelial cells. *Exp Hematol* 1989; **17**: 229-234.
25. Broudy VC, Kaushansky K, Harlan JM, Adamson JW. Interleukin 1 stimulates human endothelial cells to produce granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and granulocyte colony-stimulating factor. *J Immunol* 1987; **139**: 464-468.
 26. Kawakam M, Tsutsumi H, KumaKawa T. Levels of serum G-CSF in patients with infections. *Blood* 1990; **76**: 1962-1964.
 27. Souza LM, BooneTC, Garrilove J, Lai Por H, ZseboKM, Murdock DC, Chazin R, Bruezewski J, Lu H, Chen K, Barendt J, Platzter E, Moore, Malcolm AS, Mertelsmann WK. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: Effects on normal and leukemic myeloid cells. *Science* 1986; **232**: 61-65.
 28. ZseboKM, Cohen AM, MurdockDC, BooneTC, Inoue H, Chazin VR, Hines D, Souza LM. Recombinant human granulocyte colony stimulating factor: Molecular and biological characterization. *Immunobiol* 1986; **172**: 176-184.
 29. Nicola NA. Hemopoietic cell growth factors and their receptors. *Ann Rev Biochem* 1989; **58**: 45-47.
 30. Nicola NA, Peterson L. Identification of distinct receptors for two hemopoietic growth factors (granulocyte colony-stimulating factor and multipotential colony-stimulating factor) by chemical cross-linking. *J Biol Chem* 1986; **12**: 384-389.
 31. Begley CG, Metcalf D, Nicola NA. Binding characteristics and proliferative action of purified granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on normal and leukemic human promyelocytes. *Exp Hematol* 1988; **16**: 71-79.
 32. Nicola NA, Peterson L, Hilton DJ, Metcalf D. Cellular processing of murine colony-stimulating factor (multi-CSF, GM-CSF, G-CSF) receptors by normal hemopoietic cells and cell lines. *Growth Factors* 1988; **4**: 41-49.
 33. Walker E, Nicola NA, Metcalf D, Burgess AW. Hierarchical down-modulation of hemopoietic growth factor receptors. *Cell* 1985; **43**: 269-276.
 34. Nicola NA, Vadas MA, López AF. Down-modulation of receptors for granulocyte colony-stimulating factor on human neutrophils by granulocyte-activating agents. *J Cell Physiol* 1986; **128**: 501-509.
 35. Nagata S, Tsuchiya M, Asano S, Kazino Y, Yamazaki T, Yamamoto O, Hirata Y, Kubota N, Oheda M, Nomura H, Ono M. Molecular cloning and expression of cDNA for human granulocyte colony-stimulating factor. *Nature* 1986; **319**: 415-418.
 36. Gabrilove JL, Jakubowski A, Scher H, Sternberg C, Wong G, Grous J, Yagoda A, Fain K, Moore MAS, Clarkson B, Owtgen HF, Alton K, Welte K, Souza L. Effects of granulocyte colony-stimulating factor on neutropenia and associated morbidity due to chemotherapy for transitional-cell carcinoma of the urothelium. *N Engl J Med* 1988; **318**: 1414-1422.
 37. Bronchud MH, Scarfe JH, Thatcher N, Crowther D, Souza LM, Alton NK, Testa NG, Dexter TM. Phase I/II study of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients receiving intensive chemotherapy for small cell lung cancer. *Br J Cancer* 1987; **56**: 809-813.
 38. Morstyn G, Campbell L, Souza LM, Alton NK, et al. Effect of granulocyte colony stimulating factor on neutropenia induced by cytotoxic chemotherapy. *Lancet* 1988; **1**: 667-672.
 39. Lord BI, BronchudMH, OwensS, Chang-J, et al. The kinetics of human granulopoiesis following treatment with granulocyte colony-stimulating factor in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; **86**: 9499-9503.
 40. Hermann F, Schulz G, Lindemann A, et al. Hematologic Responses in patients with advanced malignancy treated with recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *J Clin Oncol* 1989; **7**: 159-167.
 41. Lindemann A, Herrmann S, et al. Hematologic Effects of Recombinant Human Granulocyte Colony Stimulating Factor in Patients with Malignancy. *Blood* 1989; **74**: 2644-2657.
 42. Crawford J, Ozer H, Johnson D, et al. Granulocyte colony stimulating factor: prevention of chemotherapy induced febrile neutropenia in patients with small cell lung cancer. A randomized double placebo controlled trial. *N Engl J Med* 1991; **325**: 164-170.
 43. Baldwin GC, Gasson JC, Kaufman SE, Quan SG, William SRE, Avalos BR, Gazdar AF, Golde DW, DiPersio JF. Non hemopoietic Tumor Cells Express Functional GM-CSF Receptors. *Blood* 1989; **73**: 1033-1037.
 44. Avalos BR, Gasson JC, Hedvat C, et al. Human granulocyte colony-stimulating factor: Biologic activities and receptor characterization on hematopoietic cells and small lung cancer cell lines. *Blood* 1990; **75**: 851-857.
 45. Nachbaur D, Denz H, Zwierzina H, Schmalzl F, Huber H. Stimulation of colony formation of various human carcinoma cell lines by rhGM-CSF and rhIL-3. *Cancer Lett* 1990; **50**: 197-201.
 46. Dedhar S, Gaboury L, Galloway P, Eaves AC. Human GM-CSF is a growth factor on a variety of cell types of non-hemopoietic origin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; **85**: 9253-9257.
 47. Berdel WE, Danhauser S, Steinhäuser G, Winton EF. Various human hemopoietic growth factors (IL-3, GM-CSF, G-CSF) stimulate clonal growth of nonhematopoietic tumor cells. *Blood* 1989; **73**: 80-83.
 48. Salmon SE, Liu R. Effects of GM-CSF on in-vitro growth of human solid tumors. *J Clin Oncol* 1989; **7**: 1346-1350.
 49. Vellenga E, Biesma B, Meyer C, Wagteveld L, Esselink M, de VriesEGE. The effects of five hemopoietic growth factors on human small cell lung carcinoma lines: interleukin 3 enhances the proliferation in one of the eleven cell lines. *Cancer Research* 1991; **51**: 73-76.
 50. Bronchud MH, Howell A, Crowther D, Hopwood P, Souza LM, Dexter TM. The use of granulocyte colony-stimulating factor to increase the intensity of treatment with doxorubicin in patients with advanced breast and ovarian cancer. *Brit J Cancer* 1989; **60**: 121-125.
 51. Neidhart J, Mangalik A, Kohler W, Stidley C, Saiki J, Duncan P, Suouza LM, Downing M. Granulocyte colony-stimulating factor stimulates recovery of granulocytes in patients receiving dose-intensive chemotherapy without bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1989; **7**: 1685-1692.
 52. Spitzer G, Verma DS, Fisher R, et al. The myeloid progenitor cell: Its value in predicting hematopoietic recovery after autologous bone marrow transplantation. *Blood* 1980; **55**: 3075-3085.
 53. Gianni AM, Bregni M, Siena S, et al. Rapid and complete hemopoietic reconstitution following combined transplantation of autologous blood and bone marrow cells. A changing role for high dose chemo-radiotherapy? *Hematol Oncol* 1989; **7**: 139-148.
 54. To LB, Dyson PG, Branford AL, Russell JA, Haylock DN, Ho JQK, Kimber RJ, and Juttner CA. Peripheral blood stem cells collected in very early remission produce rapid and sustained autologous hemopoietic reconstitution in acute non-lymphoblastic leukaemia. *Bone Marrow Transplantation* 1987; **2**: 103-108.
 55. Gianni AM, Bregni M, Stern AK, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to harvest circulating hemopoietic stem cells for autotransplantation. *Lancet* 1989; **II**: 580-584.
 56. Socinski MA, Cannistra SA, Elias A, Antman KH, Schinipper L, Griffin JD. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating hemopoietic progenitor cell compartment in man. *Lancet* 1988; **1**: 1194-1198.
 57. Dührsen U, Villeval J, Boyd J, Kannourakis G, Morstyn G, Metcalf D. Effects of Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor on Hematopoietic Progenitor Cells in Cancer Patients. *Blood* 1988; **72**: 2074-2081.
 58. Peters WP, Kurtzberg J, Kirkpatrick G, et al. GM-CSF primed peripheral blood progenitor cells coupled with autologous bone marrow transplantation will eliminate leukopenia following high dose chemotherapy. *Blood* 1989; **74**: (Suppl 1:1) 50a.
 59. Sheridan WP, Juttner C, Szer J, Begley G, De Luca E, Rowlings PA, McGrath K, Vincent M, Souza L, Morstyn G, Fox RM. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in peripheral blood stem cell and bone marrow transplantation. ASH Meeting. *Blood* 1990; **76** (Suppl: 2) 56a.

60. **Ventura C.J, Spitzer G, Hester J, et al.** A controlled trial of mobilized peripheral blood progenitor cells; does their additions to autologous bone marrow transplant and growth factor cause faster hematopoietic recovery? *Proceedings of ASCO* 1990; **9**: 9.
61. **Geissler K, Valent P, Mayer P, Liehl E, Hintreberger W, Lechner K, Betteriheim P.** Recombinant Human Interleukin-3 Expands the Pool of Circulating Hemopoietic Stem Cells in Primates- Synergism with Recombinant Human Granulocyte/Macrophage Colony-Stimulating Factor. *Blood* 1990; **75**: 2305-2310.
63. **Schaafsma MR, Fibbe WE, Van Der Harst D, Duinkerken N, Brand A, Osanto S, Franks CR, Willemze R, Falkenburg JHF.** Increased number of circulating hematopoietic progenitor cells after treatment with high-dose interleukin-2 in cancer patients. *Br J Hemat* 1989;**76**:180-185.
-