

# Factor estimulante de colonias granulocíticas en el recién nacido neutropénico

F. Castillo Salinas, C. Díaz de Heredia Rubio<sup>1</sup>, S. Salcedo Abizanda, A. Ferrer Comalat, P. Bastida Vila<sup>1</sup>, J.J. Ortega Aramburu<sup>1</sup>, G. Peguero Monforte

**Resumen.** *Objetivos:* Evaluar el efecto terapéutico y la tolerancia clínica del G-CSF en recién nacidos con neutropenia.

*Métodos:* Eran incluidos en el estudio aquellos recién nacidos con neutropenia periférica y una disminución de los precursores granulocíticos en el aspirado de médula ósea. El G-CSF fue administrado en infusión intravenosa en dos horas a una dosis de 10 µg/kg/día, durante 4-8 días. El recuento leucocitario era efectuado antes de cada dosis.

*Resultados:* La neutropenia era producida por una sepsis en 4 casos, y por preeclampsia materna en 3 casos. Antes del tratamiento el número de neutrófilos en sangre osciló entre 420-1.073/mm<sup>3</sup>. Una vez iniciado el tratamiento, las cifras de neutrófilos circulantes se normalizaron entre las 24-48 horas. No observamos efectos adversos ni efectos secundarios durante su administración.

*Conclusiones:* El G-CSF induce un incremento significativo en el número de neutrófilos periféricos en recién nacidos con neutropenia con ausencia de efectos tóxicos significativos. Nuestros datos sugieren que el G-CSF es un arma potencial en la profilaxis y tratamiento de la sepsis en el recién nacido neutropénico, aunque es preciso más estudios controlados.

*An Esp Pediatr 1998;49:615-618.*

**Palabras clave:** Sepsis; Preeclampsia materna; Neutropenia; G-CSF; Recién nacido.

## GRANULOCYTE COLONY STIMULATING FACTOR (G-CSF) FOR NEONATAL NEUTROPENIA

**Abstract.** *Objective:* To assess the therapeutic effect of G-CSF in newborns with neutropenia.

*Methods:* Newborn with evidence of both peripheral neutropenia and decreased granulocytic precursors in tibial bone marrow aspirate were included in the study. G-CSF was perfused intravenously over 2 hours at dose of 10 µg/kg/day, during 4-8 days. CBC were obtained immediately before each dose of G-CSF.

*Results:* Neutropenia followed neonatal sepsis in four cases and maternal pre-eclampsia in three. Prior to treatment, peripheral blood granulocyte (PMNL) counts ranged from 420 to 1,073 /mm<sup>3</sup>. Once G-CSF infusion was started, counts returned to normal within 24-48 hours. No adverse effects related to G-CSF administration were noticed.

Servicio de Neonatología. <sup>1</sup>Servicio de Hemato-Oncología. Hospital Universitario Materno-Infantil Valle Hebrón. Barcelona.

*Correspondencia:* F. Castillo Salinas. Servicio de Neonatología. Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales. Hospital Materno-Infantil Valle Hebrón. Pg Vall d'Hebrón 119-129. 08035. Barcelona.

*Recibido:* Febrero 1998

*Aceptado:* Noviembre 1998

*Conclusions:* G-CSF induces a significant increase in peripheral PMNL counts in newborn with neutropenia, in the absence of significant toxic effects. Our data suggest a potential role for G-CSF in the prophylaxis and treatment of sepsis in the neutropenic newborn, although widespread recommendation must await further, controlled studies.

**Key words:** Sepsis. Maternal pre-eclampsia. Neutropenia. G-CSF. Newborn.

## Introducción

La neutropenia en el recién nacido ha sido descrita asociada a diferentes patologías y/o terapéuticas maternas y neonatales: paso transplacentario de anticuerpos antineutrófilos maternos, toxemia del embarazo, administración de fármacos a la madre, formas graves de septicemia, defectos congénitos en la mielopoyesis, prematuridad, hemorragia intracraneal, asfixia grave, exanguinotransfusión y uso de oxigenador de membrana extracorpórea<sup>(1,2)</sup>. Durante muchos años, las posibilidades terapéuticas se limitaban a la administración de antibióticos para tratar la infección cuando se presentaba ésta, a intentar mejorar la respuesta inmunitaria mediante transfusión de granulocitos, exanguinotransfusión, administración de inmunoglobulinas y en algunas formas específicas de neutropenias congénitas al trasplante de médula ósea<sup>(3,4)</sup>. En algunas ocasiones también se ha utilizado el tratamiento esteroideo.

Diversos factores de crecimiento hematopoyético que favorecen la proliferación y maduración de las células mieloides han sido clonados mediante la tecnología del DNA recombinante. Una de estas citoquinas, el factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF), estimula específicamente la maduración de las células mieloides y su diferenciación hacia neutrófilos maduros<sup>(5)</sup>. Esta citoquina ha sido usada en recién nacidos afectados de síndrome de Kostmann, neutropenias sépticas, neutropenias asociadas a preeclampsia materna y en neutropenias aloinmunes, induciendo en todos los casos una significativa neutrofilia periférica, expresión de la proliferación y diferenciación de los precursores de la médula ósea (MO) hacia la serie granulocítica, disminuyendo el riesgo de desarrollar una infección bacteriana<sup>(1,6-9)</sup>.

Presentamos nuestra experiencia con la utilización de G-CSF examinando la variación experimentada de la cifra de los neu-

Tabla I Características clínicas

Caso	E.G.	Peso/g	Causa	Inicio tratamiento
1	31	1.850	Sepsis. <i>S.Agalactiae</i>	48 h
2	41	3.460	Sepsis. <i>S.Agalactiae</i>	24 h
3	31	1.320	Madre preecláptica	24 h
4	33	1.600	Madre preecláptica	96 h
5	27	860	Sepsis. <i>S.Epidermis</i>	96 h
6	29	1.050	Madre preecláptica	48 h
7	26	960	Sepsis. <i>Serratia</i>	10 días

trófilos circulantes en recién nacidos previamente neutropénicos y analizamos la tolerancia clínica y posibles efectos secundarios de este tratamiento.

## Material y métodos

### Características de los pacientes.

El estudio incluyó siete recién nacidos con edades gestacionales al nacer comprendidas entre 26 y 41 semanas y peso entre 860 y 3.460 g. Las principales características clínicas de cada uno se recogen la tabla I. En cuatro pacientes la causa de neutropenia fue una infección sistémica. Todos ellos recibieron tratamiento con antibióticos de amplio espectro, inmunoglobulinas i.v., y si lo precisaban, ventilación mecánica y drogas inotrópicas). Otros tres pacientes eran hijos de madres con preeclampsia, siendo en ellos el estudio de infección (hemocultivo, PCR seriada, recuento y fórmula, pruebas de coagulación), Ac antineutrófilos y complemento normales.

Los siete recién nacidos incluidos en nuestra revisión presentaban una neutropenia periférica (por debajo de los límites inferiores del contaje periférico de neutrófilos propuestos por Manroe<sup>(10)</sup>) y en todos ellos se practicó un estudio del aspirado de MO (obtenidos por punción de la meseta tibial) que mostraba una clara disminución de precursores de la serie granulocítica (< 12,5%).

### Tratamiento

Se administró G-CSF (Granuloquiner Lab. Esteve) a una dosis inicial de 10 µg/kg/día en perfusión endovenosa continua durante 2 horas. Esta dosis fue disminuida gradualmente cuando se observó un aumento del número de neutrófilos periféricos.

La duración del tratamiento osciló entre 4 y 8 días con un promedio de 6.21 días. La dosis promedio total de tratamiento fue de 49,6 µg/kg/día.

### Evaluación de la respuesta neutrofílica

Se evaluaron el contaje de neutrófilos periféricos diariamente y hasta 48 horas después de la supresión del tratamiento. Para ello se practicó un hemograma completo diario previo a la dosis de G-CSF, obteniéndose la muestra sanguínea por punción del talón.

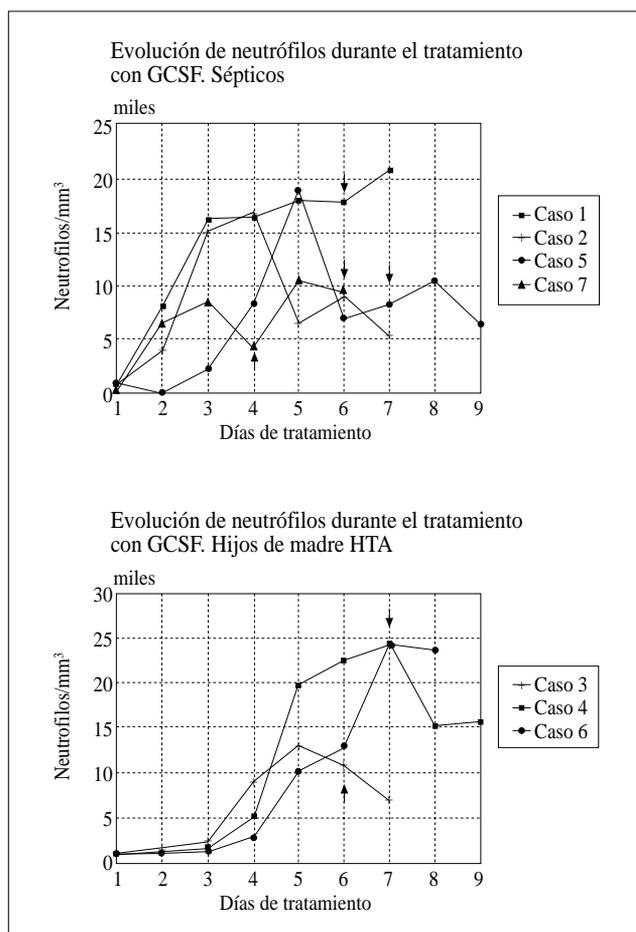


Figura 1. Evolución de los neutrófilos periféricos durante el tratamiento con GCSF.

### Evaluación de los efectos adversos

Se monitorizaron frecuencia cardíaca, respiratoria y tensión arterial. Se controlaron la aparición de posibles reacciones adversas (reacciones cutáneas y presencia de irritabilidad durante la administración del fármaco), así como cambios electrolíticos y modificaciones en el recuento y fórmula leucocitaria, plaquetas y hemoglobina.

### Resultados

La evolución del número de neutrófilos periféricos durante el tratamiento con el G-CSF se representa en la figura 1. Los neutrófilos periféricos previos al tratamiento oscilaron entre 420 N/mm<sup>3</sup> y 1.073 N/mm<sup>3</sup> (media: 701,8 N/mm<sup>3</sup>). En todos los casos observamos un aumento significativo de los neutrófilos entre las 24 y 48 horas de iniciado el tratamiento: de 625 a 6.550 N/mm<sup>3</sup> (media: 2.269 N/mm<sup>3</sup>) a las 24 horas; y de 1.500 a 14.935 N/mm<sup>3</sup> (media: 5.793 N/mm<sup>3</sup>) a las 48 horas. La respuesta neutrofílica fue más precoz en los recién nacidos sépticos que en los hijos de madre ecláptica: 24 h versus 48 h. Estas cifras de neutrófilos se mantuvieron por encima de los límites inferiores del

contaje de neutrófilos periféricos propuesto por Manroe a partir de las 24-48 horas de iniciado el tratamiento y tras la supresión de éste. En cuatro pacientes (casos 1,4,5 y 6) se apreció una importante respuesta leucocitaria a expensas de la serie granulocítica con cifras de leucocitos que llegaron hasta 36.200/mm<sup>3</sup>.

No observamos empeoramiento respiratorio, cambios en las variables hemodinámicas, reacciones cutáneas, irritabilidad ni alteraciones electrolíticas durante la administración del G-CSF.

Los valores de linfocitos, eosinófilos y monocitos fueron normales.

En cuatro pacientes (casos 1,2,5 y 6) se observó una disminución del recuento plaquetar durante el tratamiento.

## Discusión

La disminución de los neutrófilos periféricos comporta un mayor riesgo de desarrollar infecciones bacterianas graves en el período neonatal.

La neutropenia periférica es un dato observado con frecuencia en la evolución de los recién nacidos afectados de formas graves de septicemia. Se ha asociado a una mayor mortalidad. Las características de la mielopoyesis neonatal, que son muy diferentes a las del adulto, favorecen el desarrollo de una neutropenia periférica durante el proceso infeccioso en el recién nacido. Estas características diferenciales son: disminución del "pool" de progenitores mieloides (UFC-GM), escasa capacidad de proliferación de estas células progenitoras ante el estímulo séptico, disminución de la reserva granulocítica madura y utilización acelerada de los neutrófilos durante la infección<sup>(11)</sup>. Además, la función fagocitaria y bactericida de los neutrófilos no es completa.

El uso en adultos de factores estimulantes de colonias hematopoyéticas y otras citoquinas para aumentar la inmunidad celular del huésped ha planteado su uso en la inmunoterapia del recién nacido.

El factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF) es una glicoproteína de bajo peso molecular cuyo gen está localizado en el cromosoma 17 q 11-21. El G-CSF estimula la proliferación de las células progenitoras mieloides comprometidas, la diferenciación hacia granulocitos maduros y la liberación de estos granulocitos desde el "pool" de reserva medular a la sangre periférica. Además, aumenta la actividad fagocítica y bactericida de los neutrófilos. Debido a estas acciones es capaz de producir una neutrofilia periférica temprana en el curso de las primeras 24 horas de su administración, y de mantener este incremento<sup>(11,6)</sup>.

El recién nacido presenta una producción endógena y una expresión del mRNA de los factores estimuladores de colonias disminuidas respecto al adulto<sup>(12)</sup>. Estos hallazgos se han relacionado con la respuesta mieloproliferativa inmadura y los defectos funcionales de los neutrófilos que caracterizan la mielopoyesis neonatal. Sin embargo, no existen diferencias en el número de receptores de membrana para estos factores ni en la afinidad del factor por su receptor, lo que justifica la administración exógena de éstos.

En el modelo animal, la administración de G-CSF en ratas recién nacidas induce una neutrofilia similar a la inducida en animales adultos. En modelos animales neonatales con sepsis por estreptococo del grupo B, Cairo y cols. demostraron diferencias importantes en la supervivencia entre el grupo de animales tratados con G-CSF más antibióticos y el grupo tratado únicamente con antibióticos: 91% "versus" 28%, respectivamente ( $P < 0,001$ )<sup>(13)</sup>.

Se han publicado dos ensayos clínicos en fases I/II sobre el uso de citoquinas en el período neonatal. Gillan y cols. presentaron 42 recién nacidos entre 26 y 40 semanas de gestación con sospecha de sepsis en el curso de los 3 primeros días de vida a los cuales administraron G-CSF. Establecieron 6 grupos de tratamiento: 1 grupo tratado con placebo y 5 tratados con G-CSF durante 3 días a las dosis de 1, 5, 10 µg/kg/día y 5, 10 µg/12h. Demostraron seguridad en la administración del factor, buena tolerancia a cualquier edad gestacional y actividad biológica a las dosis de 5 y 10 µg/kg/día (aparición de neutrofilia en las primeras 24 horas, mantenimiento de la neutrofilia hasta 48 horas después de finalizar el tratamiento y aumento de las reservas medulares de monocitos, basófilos y polimorfonucleares<sup>(9)</sup>). Cairo y Col. administraron G-CSF a 20 recién nacidos neutropénicos de muy bajo peso al nacimiento (500-1500 gr). Éstos fueron randomizados en 4 grupos a los cuales se les administró placebo y GM-CSF (5 µg/kg/día, 5 µg/kg/12 h y 10 µg/kg/día). El tratamiento se inició en las primeras 72 horas de vida y fue administrado en infusión intravenosa durante dos horas durante 7 días. Este estudio demostró que la administración de GM-CSF durante 7 días en recién nacidos de muy bajo peso es seguro y bien tolerado, produce un incremento significativo en el número de neutrófilos circulantes, monocitos y plaquetas, así como del "pool" de almacenamiento de neutrófilos en la médula ósea<sup>(14)</sup>.

Bedford y cols. utilizaron el G-CSF en 12 recién nacidos sépticos o críticamente enfermos observando un incremento del número de neutrófilos al cuarto día de tratamiento. No observaron variaciones en las variables respiratorias controladas y sí detectaron una trombocitopenia durante el tratamiento (hecho observado también en nuestros pacientes), posiblemente por disminución de la serie megacariocítica. Los niveles de G-CSF previos al tratamiento estaban elevados en 11 pacientes sugiriendo que el mecanismo de la neutropenia podría ser la resistencia de los precursores de los neutrófilos al G-CSF endógeno<sup>(15)</sup>.

Otra causa frecuente de neutropenia en el período neonatal es la eclampsia materna. Cerca del 50% de los recién nacidos de madre ecláptica o preecláptica demuestran neutropenia que puede prolongarse hasta 30 días. Ello conlleva un elevado riesgo de desarrollar infecciones bacterianas. Este riesgo es mayor en los prematuros y en los recién nacidos que presentan retraso de crecimiento intrauterino. La disminución del número de neutrófilos totales puede ser debida a un defecto en la actividad del G-CSF que da lugar a una disminución del almacén de neutrófilos en la médula ósea sin evidencia de un incremento de la destrucción o marginación de los mismos. La causa de esta disminución en la actividad biológica, aunque no en la concentración

sérica, del G-CSF puede estar determinada por un inhibidor de la misma sintetizado por la placenta<sup>(6,16)</sup>. La utilización de G-CSF en recién nacidos hijos de madre afecta de preeclampsia, con la intención de incrementar precozmente el número de neutrófilos circulantes y disminuir el riesgo de infección, ha permitido observar un incremento rápido de los neutrófilos entre las 6-48 h tras inicio del tratamiento, manteniéndose niveles normales una vez finalizado el mismo<sup>(6,7)</sup>. Los efectos adversos descritos con el uso de G-CSF en pacientes adultos como dolores óseos, rash, vasculitis y reacción anafiláctica, raramente se han observado en el recién nacido. Aunque han sido descritos algunos casos de desarrollo de leucosis en pacientes tratados crónicamente con G-CSF<sup>(17)</sup>, el seguimiento a los 2 años de los recién nacidos tratados con G-CSF por sospecha de sepsis no ha mostrado ningún efecto hematológico, inmunológico ni en el desarrollo a largo plazo de estos niños<sup>(18)</sup>.

En nuestros pacientes, al igual que en los demás casos publicados de recién nacidos tratados con G-CSF, el tratamiento fue bien tolerado y hemos observado una resolución de la neutropenia con neutrofilia importante a las primeras horas de su administración. Este cambio fue más acusado y precoz en los casos de neutropenia de etiología séptica.

En resumen, el G-CSF es bien tolerado por el recién nacido, incrementa los neutrófilos circulantes y sus precursores en la médula ósea, mejorando con ello las defensas cuantitativas y cualitativas del recién nacido contra la infección bacteriana. Sin embargo, antes de introducirlo como arma terapéutica habitual en el tratamiento y la prevención de la sepsis neonatal en recién nacidos neutropénicos, tendrían que realizarse más estudios aleatorizados y controlados corroborando su eficacia clínica y la ausencia de posibles efectos tóxicos potenciales a corto y largo plazo. Dada la relativa baja incidencia de esta patología creemos que sería muy interesante el realizar un estudio multicéntrico nacional auspiciado y controlado por la Sociedad Española de Neonatología

## Bibliografía

- 1 Robert R, Szelc C, Scates S, Boyd M, Soderstrom K, Davis M, Glaspy J. Neutropenia in an extremely premature infant treated with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *AJDC* 1991; **145**:808-812.
- 2 Baley JE, Stock EK, Warkentin PL, Shurin SB. Neonatal neutropenia: Clinical manifestations, cause, and outcome. *AJDC* 1988; **142**:1161-1166.
- 3 Cairo MS, Worcester C, Rucker R. Role of circulating complement and polymorphonuclear leukocyte transfusion in treatment and outcome in critically ill neonates with sepsis. *J Pediatr* 1987; **110**:935-941.
- 4 Raperport JM, Parkman R, Newburger P, Camitta BM. Correction of infantile agranulocytosis by allogenic bone marrow transplantation. *Am J Med* 1980; **68**:605-609.
- 5 Lieschke G, Burgess A. Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *N Engl J Med* 1992; **327**:28-34.
- 6 Makhlof R, Doron M, Bose C, Price W, Stiles A. Administration of granulocyte colony-stimulating factor to neutropenic low birth weight infants of mothers with preeclampsia. *J Pediatr* 1995; **126**:454-456.
- 7 La Gamma E, Alban O, Kocherlakota P. Effect of granulocyte colony-stimulating factor on preeclampsia associated neonatal neutropenia. *J Pediatr* 1995; **126**:457-459.
- 8 Gilmore M, Stronck D, Korones D. Treatment of alloimmune neonatal neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *J Pediatr* 1994; **125**:948-951.
- 9 Gillan E, Suen Y, Ellis R, Hunter D, Christensen R, Cairo M. A randomized placebo controlled Phase I/II trial of RhG-CSF in newborns with presumed sepsis: Absence of toxicity and induction of significant neutrophilia and bone marrow storage and progenitor pools. *Pediatric Res* 1993; **33**:291A.
- 10 Manroe B, Weinberg A, Rosendfeld Ch, Browne R. The neonatal blood count in health and disease. I. reference values for neutrophilic cells. *J Pediatr* 1979; **95**:89-98.
- 11 Cairo M. Citoquinas: una nueva inmunoterapia. *Clinicas de Perinatología, ED Interamericana-Mcgraw-Hill* 1991; **2**:347-363
- 12 Cairo MS, Suen Y, Knoppel E et al. Decreased G-CSF and IL-3 production and gene expression from mononuclear cells of newborn infants. *Pediatr Res* 1992; **31**:574-578.
- 13 Cairo MS, Mauss D, Vande Ven C. The synergistic effect of 7 days prophylactic G-CSF treatment +/- antibiotics in newborn rats infected with Group B Streptococcus. *Clin Res* 1990; **38**:182A
- 14 Cairo MS, Christensen R, Sender L, Ellis R, Van de Ven C, Worcester C, Agosti JM. Results of Phase I/II trial of Recombinant Human Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor in Very Low Birthweight Neonates: Significant induction of circulatory neutrophils, monocytes, platelets and bone marrow neutrophils. *Boold* 1995; **86**:2509-2515.
- 15 Bedford R, Graham E, Gordon S. Granulocyte colony stimulating factor treatment for neonatal neutropenia. *Arch Dis Child* 1995; **72**:F53-F54.
- 16 Koenig J, Christensen K. Incidence, neutrophil kinetics and natural history of neonatal neutropenia associated with maternal hypertension. *N Engl J Med* 1989; **321**:557-562.
- 17 Weinblatt M, Scimeca P, James A, Sahdev I, Kochen J. Transformation of congenital neutropenia into monosomy 7 and acute nonlymphoblastic leukemia in a child treated with granulocyte colony-stimulating factor. *J Pediatr* 1995; **126**:263-265.
- 18 Rosenthal J, Ellis R, Haley T et al. Long term (2 years) haematologic, immunologic and developmental follow-up of neonates with presumed sepsis treated with G-CSF during the first three days of life. *Pediatr Res* 1995; **37**:1772 (Abst.)