



01674
16

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA REPRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

**"EVALUACIÓN DE LA TERAPIA CON EL FACTOR
ESTIMULADOR DE LA COLONIA DE LOS
GRANULOCITOS HUMANO EN PERROS
NEUTROPÉNICOS"**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

FRANCISCO DAVID MACÍAS MARÍN

COMITÉ TUTORAL:

**MVZ. DC GUSTAVO ADOLFO GARCÍA SÁNCHEZ
Dr. PÍNDARO MARTÍNEZ OSUNA
Dr. LUIS PABLO ALESSIO ROBLES**

México, D.F.

2003

2

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

Autógrafa a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de esta tesis. Página 1

NOMBRE

Francisco Macías Marín

FECHA

21/11/2003

SERIAL

RESUMEN

ABSTRACT

1.-Introducción	1
1.1.- Función de los neutrófilos	3
1.2.- Producción y cinética	3
1.3.- Fisiología y patología de la neutropenia	4
1.4.- Neutropenia asociada a infección	4
1.4.1.- Neutropenia debido a incremento de la demanda debido a inflamación marcada, sepsis, bacteriana, endotoxemia.	5
1.4.2.- Neutropenia inducida por medicamentos	5
1.4.3.- Enfermedad medular primaria	6
1.4.4.- Neutropenia inmunomediada	6
2.- Factor estimulador de la colonia de los granulocitos (G-CSF)	6
2.1.-Producción	6
2.2.- Función del G-CSF sobre los neutrófilos	7
2.3.- Efecto de el G-CSF sobre la hematopoyesis	7
2.4.- Efecto del G-CSF en el hemograma	8
2.5.- Indicaciones de uso del G-CSF en medicina veterinaria	8
2.6.- Obtención comercial del G-CSF	8
2.7.- Reacciones adversas por la administración de rhG-CSF	9
2.8.- Contraindicaciones de la administración de los G-CSF	9

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.9.- Formación de autoanticuerpos neutralizantes por utilización de rhG-CSF	10
3.-HIPÓTESIS	12
4.-OBJETIVO	12
5.-MATERIAL Y MÉTODOS	13
6.-RESULTADOS	
7.-DISCUSIÓN	
8.- LITERATURA CITADA	
9.-TABLAS	
10.-GRÁFICAS	

RESUMEN

Los factores estimuladores de colonias de granulocitos (rhG-CSF) son citocinas que estimulan el crecimiento de las células progenitoras de la médula ósea, así como la maduración y función de las células sanguíneas terminales diferenciadas. Su uso en medicina veterinaria se limita exclusivamente en perros y gatos que padecen neutropenia sin importar la etiología, pero la limitante principal es el costo del medicamento. Se ha observado que la aplicación repetida de los rhG-CSF aumenta significativamente el número total de granulocitos circulantes pero se ha desarrollado neutropenia post aplicación. Determinar si existe diferencia en el tiempo de recuperación del valor normal de neutrófilos en perros neutropénicos, entre el grupo de pacientes tratados con rhG-CSF y el grupo placebo. En este estudio se utilizaron 2 grupos de pacientes neutropénicos, de los cuales uno era el grupo control y el otro, el grupo experimental, con 10 pacientes cada uno; al grupo experimental se aplicó 5 µg/kg vía subcutánea cada 48 horas del rhG-CSF. Los perros que ingresaron al estudio tenían neutropenia $>3000 \times 10^9/L$ células y se monitorearon con hemogramas cada 48 horas hasta alcanzar valores normales. Se observó que hubo una diferencia significativa ($P<0.05$) de recuperación en la cantidad de neutrófilos en el grupo experimental comparado con el control; además no se observó una neutropenia posterior al tratamiento con el protocolo utilizado.

Palabras Clave: Neutropenia, factor estimulador de la colonia de los granulocitos, citocinas, perro.

PAGINACIÓN DISCONTINUA

ABSTRACT

The stimulating factors of granulocytes colonies (G-CSF) are cytokines that stimulate the growth of the progenitor cells of the bone marrow, as well as the maturation and function of terminal differentiated blood cells. Its use in veterinary medicine is limited just to those patients that suffer from neutropenia no matter the etiology, although the first inconvenient is the cost of the drug. It has been observed that with the repetitively application of the rhG-CSF, the total number of granulocytes increases, but neutropenia post-application has also occurred. In this study, there were two groups of neutropenic patients; a control one and an experimental one with 10 patients each. The experimental group received a subcutaneous dosage of $5\mu\text{g}/\text{kg}$ of rhG-CSF. The patients that were used in this study, had neutropenia of $>3000 \times 10^9/\text{L}$ cells and were monitored with hemograms every 48 hours until they reach normal values. A significative difference of recuperation in the amount of neutrophils was observed in the experimental group as compared with of the control group; in this protocol, there were no neutropenic patients post-treatment.

Key Words: Neutropenia, granulocyte colony stimulating factor, cytokine, dogs.

1 INTRODUCCIÓN:

Los factores estimuladores de colonias de granulocitos son citocinas que estimulan el crecimiento de las células progenitoras de la médula ósea, así como la maduración y función de las células sanguíneas terminales diferenciadas. El factor estimulador de colonias de los granulocitos (rhG-CSF) es producido por las células estromales de la médula ósea, fibroblastos, células endoteliales, monocitos y macrófagos. El rhG-CSF es estimulado por interleucina-1 (IL). IL-3, factor de necrosis tumoral (TNF), interferón alfa y endotoxinas bacterianas. Los receptores del rhG-CSF están presentes en granulocitos, monocitos, células mieloides de leucemia y plaquetas. (1)

En medicina veterinaria se ha utilizado el rhG-CSF en diferentes patologías, tales como parvovirus canino, panleucopenia felina, leucemia viral felina, síndrome de inmunodeficiencia felina, septicemias y neutropenia cíclica del Collie en donde la neutropenia es una secuela común de estas enfermedades antes mencionadas. (1, 2, 3, 4)

El rhG-CSF recombinante se produce sintéticamente a partir de *E. coli*. Se absorbe rápidamente después de aplicación subcutánea, se puede detectar en sangre después de 5-15 minutos y alcanza su punto de máxima concentración 3 a 6 horas más tarde.

El rhG-CSF se conoce con varios sinónimos: CSF-2, factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos, molgramostinum, rhGM-CSF y Sch 39300, entre otros.

1.1 Función de los neutrófilos

Los neutrófilos matan o inactivan bacterias, hongos, levaduras, algas, parásitos y virus (*in vitro*) y también *in vivo*. Ellos eliminan células infectadas o transformadas, y

amplifican y modulan reacciones inflamatorias agudas secretando pirógenos endógenos, así como también la estimulación de la liberación de ácido araquidónico. (1,3.)

1.2 Producción y cinética de los neutrófilos

La producción de neutrófilos por la médula ósea en perros y gatos toma aproximadamente 3 a 6 días; y el tiempo de vida en promedio de los neutrófilos maduros es de 4 a 8 horas en sangre periférica y de 4 a 5 días en los tejidos. (3, 5, 6) Los neutrófilos van madurando siguiendo las etapas: mieloblasto, promielocito, mielocito, metamielocito, banda y neutrófilo segmentado. Los neutrófilos se pueden encontrar distribuidos en dos compartimientos principales: a) Reserva medular y b) reserva Circulante. (3, 5, 6)

a) Reserva Medular:

1.-Reserva mitótica: (Compartimiento de proliferación y maduración) Constituye aproximadamente el 20% de todo el total de los neutrófilos e incluyen las células progenitoras mieloblastos, promielocitos, mielocitos.

2.-Reserva no mitótica: (Compartimiento de maduración y almacenamiento) Contiene el 70% del total de los neutrófilos, incluyendo metamielocitos, bandas, neutrófilos segmentados. El restante 10 % del total de neutrófilos están en sangre periférica.

b)Reserva Circulante: Cuenta con dos compartimientos el 1.-Reserva Circulante y el 2.- reserva Marginal.

1.-Reserva Circulante: Consisten en neutrófilos en circulación activa.

2.-Reserva Marginal: Consiste en neutrófilos que se mueven lentamente a través de los capilares y venas. (3, 6)

1.3 Fisiología y patología de la neutropenia

La neutropenia puede ser causada por:

1.-Incremento en el uso de neutrófilos más allá de la producción de la médula ósea. : Es una situación transitoria en donde en las horas iniciales a días de un estímulo inflamatorio constante en donde disminuye el suministro de neutrófilos de la reserva de almacenamiento de la médula. El número de células circulantes de la reserva neutrófilos refleja un balance entre la sangre entrante de la médula y aquellos saliendo de los tejidos. (6)

2.-Decremento de la producción en la médula ósea.: Son condiciones en las que inhiben o existe un secuestro en el desarrollo dentro de la médula ósea. La médula es típicamente hipocelular en la mayoría de esas situaciones, en donde se expone a toxinas, quimioterapéuticos, medicamentos inmunosupresores, enfermedades virales, fibrosis, radioterapia entre otros. En esos casos la médula ósea activa de precursores de hematopoyesis se reemplaza por fibrosis o grasa. En contraste la infiltración tumoral de la médula ósea o mieloptisis produce una reducción en la producción de neutrófilos, pero muestra típicamente una médula ósea hipercelular con una cantidad de células tumorales. Se observa una pequeña cantidad de granulocitos normales en desarrollo. (6)

3.-Procesos inmunomediados que inhiban la granulopoyesis o destruyan los neutrófilos circulantes. (3, 6)

Se mencionarán las causas o mecanismos más comunes para producción de neutropenia:

1.4 Neutropenia asociada a infección

Las enfermedades infecciosas son las causas más frecuentes la neutropenia. La infección con parvovirus es la enfermedad individual más común asociada con neutropenia (46.9%) demostrado en un estudio (3). El virus es citotóxico para las células hematopoyéticas y la hipoplasia mieloide y eritroide es evidente durante estados agudos de la enfermedad.

Los neutrófilos y células progenitoras de neutrófilos son afectados en gatos con viremia persistente e infecciones de virus de leucemia felina (LeVF) latentes. Puede existir neutropenia persistente, transitoria y cíclica. La neutropenia cíclica asociada a LeVF en algunas vías puede ser similar a las neutropenias cíclicas hereditarias en perros y gatos.

Las formas crónicas de *Ehrlichia canis* pueden reducir todas las células hematopoyéticas y evidenciando hipocelularidad de la médula ósea. (2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14) (Tabla 1)

1.4.1 Neutropenia asociada a incremento de la demanda debido a inflamación marcada, sepsis, bacteriana, endotoxemia

Los estados patológicos o fisiológicos que producen neutropenia debido al aumento de la demanda contundente de neutrófilos son: enfermedades como piometra, sepsis, neumonía, osteomielitis, trauma y peritonitis. (2, 3, 4, 9, 10, 11, 13, 14)

1.4.2 Neutropenia inducida por medicamentos

El mecanismo preciso por el cual las drogas y sus metabolitos inducen neutropenia es desconocido. Un porcentaje substancial (11.5%) de las neutropenias en perros y gatos es secundaria a un daño producido a la médula ósea por los medicamentos. Los quimioterapéuticos son causa importante de neutropenia por sus efectos supresivos directos hacia las células precursoras de la médula ósea. La recuperación de ésta condición puede ocurrir días o semanas después de la discontinuación de la droga. (3, 4, 6, 9, 10, 11, 15). (Tabla 2)

1.4.3 Enfermedad medular primaria

La neutropenia resultante de una enfermedad medular primaria es muy rara; un estudio reporta que sólo el 3.8 % de los casos de neutropenia fue secundaria a una enfermedad primaria medular. (3) La neoplasia medular, la mielodisplasia (eritroide, mioeloide, o líneas celulares megacariocíticas con una población de células blásticas menor al 30% de toda la población de la médula) o aplasia de las líneas celulares pueden causar neutropenia. (3, 4, 6)

1.4.4 Neutropenia inmunomediada

La neutropenia inmunomediada o autoinmune es una enfermedad raramente documentada en medicina veterinaria; en donde puede ser idiopática, secundaria a medicamentos, infección, neoplasia, ó asociada a otras enfermedades inmunomediadas. Existen diferentes teorías de los mecanismos, en donde los auto anticuerpos están dirigidos ya sea a antígenos de neutrófilos específicos o en contra de reguladores de crecimiento de granulopoyesis. Si se vuelven un blanco los antígenos de neutrófilos específicos, las inmunoglobulinas en neutrófilos o sus precursores se pueden usar como diagnóstico con una sensibilidad que fluctúa entre el 78% al 98%. El blanco en contra de un antígeno específico resulta en la opsonización de neutrófilos y la eliminación por los macrófagos. El sitio de eliminación es extravascular, dentro del bazo o de la médula o de ambos; si se da en la médula hay eliminación completa de las éstas células. (3, 4, 7, 16, 17, 18).

2 Factor estimulador de la colonia de los granulocitos (G-CSF)

2.1 Producción

Es una citocina producida por las células estromales de la médula ósea, fibroblastos, células endoteliales, monocitos y macrófagos. Se estimula la producción del factor estimulador de la colonia de los granulocitos (G-CSF) por medio de la interleucina

(11.-1, 11.-3, factor de necrosis tumoral (TNF), interferón γ y endotoxinas bacterianas. (1, 2, 19, 20)

2.2 Función del G-CSF sobre los neutrófilos

La función del factor estimulador de la colonia de los granulocitos es la de acortar el tiempo de maduración de los neutrófilos así como la de incrementar la función de éstos por medio de el aumento de la liberación de superóxidos. estimulación de la liberación de ácido araquidónico, aumento de la quimiotaxis, síntesis de leucotrieno B₄, cambio en el flujo de calcio y de pH dentro y fuera de la célula. como también potencializar el procesamiento de antígenos. (1, 2, 4, 9, 10, 11, 13, 14, 19, 20.)

2.3 Efecto de G-CSF sobre la hematopoyesis

Las citocinas, en general tienen un efecto pleiotrópico en diferentes líneas celulares. Existen varios mecanismos por los cuales las citocinas han mostrado tener influencia en la hematopoyesis: Inicialmente, las células progenitoras inactivas son estimuladas a ciclar, y el tiempo del ciclo de las células progenitoras activas se puede incrementar o disminuir; el tiempo de tránsito, que es el tiempo necesario para que una célula entre o salga de algún compartimiento, es afectado por las citocinas; estas citocinas pueden actuar previniendo o induciendo apoptosis es un significado importante de la regulación de las citocinas; y finalmente se sabe que algunas citocinas influyen en la migración de células progenitoras medulares hematopoyéticas hacia sitios extramedulares. (19)

Las citocinas pueden tener varias funciones durante la hematopoyesis como es la sinergismo, pleiotropismo y redundancia. El sinergismo ocurre cuando dos citocinas actúan simultáneamente en distintos parámetros. El pleiotropismo es la habilidad de una citocina para afectar más de un parámetro. La redundancia es la habilidad para que múltiples citocinas afecten el mismo parámetro y es prevalente en la red de citocinas. (19) (Figura 1)

2.4 Efecto del G-CSF en el hemograma

La utilización del G-CSF induce en el hemograma una neutrofilia con desviación a la izquierda, incrementa el número de células progenitoras circulantes, puede haber presencia de cuerpos de Döhle, vacuolización y granulación tóxica. (1, 2, 13, 14)

2.5 Indicaciones de uso del G-CSF en medicina veterinaria

Se ha recomendado el uso del G-CSF en medicina veterinaria en los siguientes padecimientos: Leucemia viral felina (LeVF), Síndrome de inmunodeficiencia felina (FIV), parvovirus canino (PV), panleucopenia viral felina (PVF), moquillo canino, erliquiosis canina, neutropenia cíclica, quimioterapia, endotoxemia o cualquier enfermedad que induzca neutropenia marcada. (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 20, 21, 22) (Tabla 1)

2.6 Obtención comercial del G-CSF

Comercialmente se puede obtener en el mercado el factor estimulador de la colonia de los granulocitos recombinante humano (rhG-CSF) el cuál tiene un precio elevado. El factor estimulador de la colonia de los granulocitos canino (cG-CSF o rG-CSF) no se puede conseguir comercialmente en México.

2.7 Reacciones adversas por la administración de rhG-CSF

Después de la administración de rhG-CSF en perros y gatos se ha demostrado la formación de auto anticuerpos neutralizantes. Debido que la molécula del rhG-CSF y el cG-CSF tienen un 80 % de similitud en su secuencia de aminoácidos, se sugiere que los anticuerpos contra rhG-CSF reaccionan en forma cruzada contra el cG-CSF lo que finalmente induce una neutropenia de rebote tras la aplicación consecutiva del rhG-CSF. Esta neutropenia se produce aproximadamente al mes de haberse aplicado el tratamiento que puede durar hasta cuatro meses después de haberlo discontinuado. Se ha mencionado que auto anticuerpos neutralizantes no se han formado en paciente recibiendo quimioterapia con mitoxantrone y ciclofosfamida. (1, 2, 3, 9, 10, 13, 14, 20, 23)

En humanos se ha descrito una reacción alérgica entre los primeros 15 minutos hasta los 180 minutos después de la primera aplicación del medicamento, algunos de los síntomas que se han reportado son: hipotensión, taquicardia, fiebre, rigor, náusea, vómito, diaforesis, dolor en la espalda, espasmos musculares, dolores óseos, mareo, dolor de

cabeza y letargo entre otras. La mayoría de las veces que ocurre una reacción esta relacionada con pacientes con cáncer pulmonar (1, 2, 3, 9, 10, 13, 14, 20, 23)

2.8 Contraindicaciones de la administración de los G-CSF

Cualquier enfermedad microproliferativa

2.9 Formación de autoanticuerpos neutralizantes por utilización de rhG-CSF

La identificación y caracterización de antígenos (Ag) específicos involucrados en condiciones patológicas generalmente comienza con el reconocimiento que esos anticuerpos (Ac) son asociados con un desorden clínico en particular. Los Ac patológicos pueden ser autoAc, alloAc, isoAc o Ac inducidos por medicamentos. Los Ac son especialmente reactivos con Ag normales propios que son comunes en la mayoría de las especies individuales. (15)

Los alloAc son reactivos con alloAg, usualmente proteínas que son reconocidas como diferentes por diferentes individuos de la misma especie. Los sitios alloantigénicos resultan seguidamente de polimorfismos inherentes de residuos de aminoácidos de una proteína común.

Los isoAc en el sentido purista, reaccionan con epitopes no polimórficos que existen en todos los individuos normales de todas las especies.

Los Ac inducidos por medicamentos ocurren cuando se exponen a un fármaco. Algunos aparentan ser autoAc que se unen a autoAg en una manera dependiente a medicamentos y persisten prolongadamente después del cese de la medicación. (15)

La unión dependiente a medicamentos puede ser mediada por Fab o Fc.

Los Ag humanos de granulocitos ó plaquetas son reactivos con Ac patológicos incluyendo proteínas, lípidos, moléculas de carbohidratos. Los Ag de proteínas son más importantes y mejor caracterizados. Estos pueden ser citosólicos o exosólicos, pero son los Ag exosólicos que son responsables de la mayoría de las condiciones clínicas relacionadas con los Ag de los granulocitos y plaquetas. (15)

Las neutropenias inducidas por medicamentos usualmente son resultado de una mielosupresión dosis dependiente. Los medicamentos o sus metabolitos pueden causar neutropenia por destrucción mediada por Ac, por destrucción mediada por células de los neutrófilos o de sus precursores medulares.

Muchos medicamentos han sido implicados en causar mielosupresión en medicina veterinaria, pero no se han comprobado los mecanismos inmunomediados. (15)

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental clínico, caso-control, en 4 clínicas del Distrito Federal que estuvieron de acuerdo en participar en la investigación. Los criterios de inclusión fueron perros que presentaban una cuenta total de neutrófilos $\leq 3 \times 10^9/L$ con o sin leucopenia total. Los pacientes electos fueron incluidos en dos grupos de diez pacientes cada uno; El grupo 1, experimental o con tratamiento, y el grupo 2, o control con placebo. La asignación de cada paciente a cada grupo se realizó de manera ciega, ya que el médico veterinario recibió los frascos de tratamiento y placebo codificados.

Ambos grupos estaban conformados por pacientes menores a seis meses de edad, sin importar el sexo y raza, a quienes se les practicó examen físico general, examen coproparasitoscópico y hemograma basal; posteriormente se realizaron hemogramas de control cada 48 horas hasta alcanzar una cuenta de neutrófilos $\geq 3 \times 10^9/L$; al alcanzar esa cifra se monitorearon los estudios cada 15 días durante 2 meses.

Durante el tiempo de hospitalización a los pacientes se les aplicó terapia de líquidos, se le administraron antibióticos de amplio espectro (terapia de soporte).

Los pacientes del primer grupo o grupo experimental recibieron tratamiento de $5 \mu g/kg$ de rhG-CSF por vía subcutánea cada 48 horas y se discontinuaba hasta que alcanzaran una cifra $\geq 3 \times 10^9/L$.

En el segundo grupo o control sólo recibieron terapia de soporte.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron en el paquete estadístico Minitab™ para Windows™ 95 de la compañía Addison-Wesley y se utilizó la prueba T de Student para la comparación entre los dos grupos.

HIPÓTESIS

- 1.-La administración de rhG-CSF en pacientes con neutropenia, con o sin leucopenia, puede disminuir el tiempo de recuperación de los niveles de neutrófilos por encima de $\geq 3 \times 10^9/L$ que en aquellos que no son tratados con rhG-CSF.
- 2.-Después de la recuperación de la cifra de neutrófilos, no ocurre efecto de neutropenia post tratamiento en un periodo de 2 meses.

OBJETIVO

Determinar si existe diferencia en el tiempo de recuperación del valor normal de neutrófilos en perros neutropénicos, entre el grupo de pacientes tratados con rhG-CSF y el grupo placebo.

RESULTADOS

La Tabla 3 presenta la descripción de los pacientes en cada grupo y el tiempo en días que tardaron en recuperarse; en donde los días de recuperación fueron menores en el grupo 1 (tratados) que en el grupo 2 (control).

En la Tabla 4, se muestra la media de ambos grupos con respecto a edad, valores basales de neutrófilos al ingresar al estudio, distribución de sexo. Se puede observar que con respecto a la edad, ambos grupos son similares en cuanto a sus medias sin mostrar diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.22$). No así en el caso de neutrófilos basales al momento de ser incluidos al estudio, aquí se puede observar que el grupo de tratados presentó una media ligeramente menor (1.140) con respecto al grupo con placebo (1.77), resultando esta diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.029$).

Con respecto a la raza ambos grupos mostraron similares variaciones de razas, en ninguno de los casos se presentó neutropenia post tratamiento.

La comparación del tiempo de recuperación de los valores de neutrófilos $\geq 3 \times 10^9/L$ entre el grupo de perros tratados con rhG-CSF (Leucomax®) versus los que recibieron placebo, se muestran en la tabla 6. Así mismo en la Tabla 5, se describe el resumen de la prueba T de Student de la comparación de la media de esta variable en ambos grupos, donde se observa que hubo una diferencia de 4.6 días más en el grupo que no fue tratado, con respecto al que se le aplicó el tratamiento de 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de rhG-CSF (Leucomax®) por vía subcutánea cada 48 horas, resultando esta diferencia estadísticamente altamente significativa ($P = 0.0008$).

DISCUSIÓN

Los pacientes que fueron tratados con el rhG-CSF (Leucomax®) recuperaron la cuenta normal de neutrófilos en 3.8 días comparado con los que no lo recibieron que fué de 8.4. es decir existió una disminución en el tiempo de recuperación de los neutrófilos de 4.6 días en los perros tratados Así como lo describe otro artículo en donde la aplicación en perros enfermos con parvovirus, ya que hubo mejoría referiéndose a los días de recuperación de los neutrófilos al aplicárseles tratamiento con el rhG-CSF comparado con el que no se le aplicó. (2, 30), En donde se notó una marcada mejoría fueron en los pacientes tratados con el rG-CSF. Pero a la vez difiere con otros estudios donde comentan que no existe diferencia con la aplicación del rhG-CSF. (2, 12)

Aún y cuando cada uno de los pacientes tratados no fueron empatados con un perro comparativamente similar en el grupo al que se les administró placebo, es decir en cuanto a sexo, edad y raza, ya que resultó sumamente difícil contar con dos perros de la misma raza, sexo y edad, que enfermarán al mismo tiempo y a los cuales sus dueños y veterinarios estuvieran dispuestos a formar parte de el presente estudio, se demostró que ambos grupos en conjunto no mostraron deferencias estadísticamente significativas en cuanto a estos marcadores; es decir, ambos grupos fueron comparativamente similares en esos aspectos. De la misma manera otros estudios reiteran el no haber diferencia estadística entre sexo, y edad. (12)

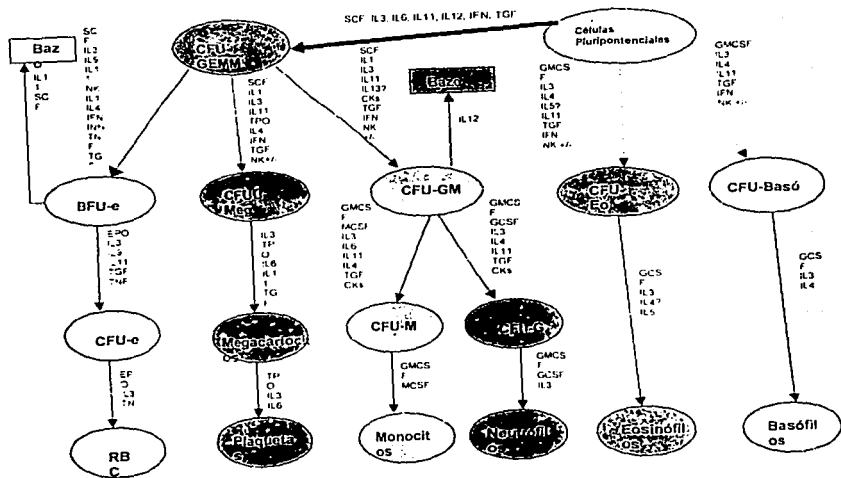
El hecho de que el grupo tratado presentara valores basales de neutrófilos mas bajos al ser incluidos en el estudio que los del grupo control, le da mayor relevancia al número menor de días de recuperación que logró el grupo tratado con rhG-CSF (Leucomax®).

Resulta lógico suponer que un perro que esta inmunológicamente deprimido, tardaría en promedio mas tiempo en recuperarse no obstante, este grupo de perros logró una recuperación 4.6 días mas rápido que los no tratados.

Cabe mencionar, que además los individuos en cada grupo fueron determinados al azar, ya que la asignación del tratamiento de los pacientes se hizo a ciegas. Lo que refuerza el esfuerzo por no cometer sesgos al hacer la comparación en ambos grupos.

Los resultados obtenidos coinciden con lo que otros autores han reportado con respecto a la utilización de rhG-CSF, sugiriendo que este fármaco induce neutrofilia con desviación a la izquierda, estimula un mayor número de células progenitoras en la circulación acortando el tiempo de maduración de los neutrófilos y mejorando la función de los mismos. (1,2, 12) Al igual se ha observado el mismo efecto con el rcG-CSF (30)

El hecho de poder reducir los tiempos de recuperación en los perros con patologías de tipo agudo como parvovirus u otras, puede resultar muy significativo para el pronóstico de dicho paciente, ya que, esta reducción puede traducirse en menor tiempo de hospitalización y por lo tanto menor riesgo de adquirir infecciones secundarias o complicaciones, lo que significará mayores expectativas de recuperación con costos de hospitalización menor.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Bibliografía

1. Henry C.J, Rewerts J.M, Veterinary uses of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. Part I Oncology. *Comp contin educ pract vet.* 20 (6). 728-735. 1998.
2. Henry C.J, Rewerts J.M, Veterinary uses of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. Part II. Infectious diseases. *Comp contin educ pract vet.* 20 (7). 1998.
3. Brown R.M, Rogers K.S, Neutropenia in dogs and cats. *Comp contin educ pract vet.* 534-543. 2001.
4. Brown M.R, Rogers K.S, Neutropenia in Dogs and Cats: a retrospective study 261 cases. *J Am Anim Hosp Assoc.* 37:131-139.2001
5. Feldman B.F, Zinkl J.G, Jain N.C.: Neutrophils. En: Schalm's veterinary hematology. 281-296.5a ed. Ed.Lippincott Williams and Wilkins. EUA. 2000
6. Feldman B.F, Zinkl J.G, Jain N.C.: Neutropenia. En: Schalm's veterinary hematology. 350-355.5a ed. Ed.Lippincott Williams and Wilkins. EUA. 2000
7. Barber L, Litwin C, Mc Manus P.M. Immune mediated neutropenia in 2 dogs. *J Vet Intern Med.* 13: 372-374, 1999.

8. Barth T, Mishke R, Nolte I, Rohn K, Wohlsein P. Effect of recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF) on leucocyte count and survival rate with parvoviral enteritis. *Exp Hematol.* 18(11): 1199-1203, 1990.
9. Boon G.D, Cohn L.A, Lothrop Jr.C.D, Mc Caw D, Rewerts M, Wagner-Mann C, Plasma granulocyte colony stimulating factor concentrations in neutropenic parvoviral enteritis infected puppies. *J Vet Intern Med.* 13:581-586, 1999.
10. Bonagura J.D, Kirk R.W. Citocina inmunoregulatoras y su potencial terapéutico En: *Terapéutica veterinaria de pequeños animales XI.* 509-514. Ed. Mc Graw Hill. España. 1994.
10. Bonagura J.D, Kirk R.W.: Factores de crecimiento hematopoyético: Utilización clínica e implicaciones. En: *Terapéutica veterinaria de pequeños animales XI.* 515-524. Ed. Mc Graw Hill. España. 1994.
11. Bonagura J.D, Kirk R.W. Citocinas modificadoras de la respuesta biológica en la práctica en pequeñas especies. En: *Terapéutica veterinaria de pequeños animales XII.* 592-599. Ed. Mc Graw Hill. México. 1997.
12. Cohn L.A, Harrington D, Mc Caw D.L, Rewerts J.M, Wagner-Mann C. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor for treatment of puppies with neutropenia secondary to canine parvovirus infection, *JAVMA*, 213 (7). 1998.

13. Morrison W.B, Medical and surgical management. En: Cancer in dogs in cats. Ed. Williams and Wilkins. EUA. 118. 1998.
14. Ogilvie G.K; Moore A.S, Hematopoietic growth factor support. En: Managing the veterinary cancer patient. A practice manual. 142-147. 2a ed. Ed. *Veterinary learning systems*. EUA. 1994.
15. Feldman B.F, Zinkl J.G, Jain N.C.: Granulocyte and platelet antigens. En: Schalm's veterinary hematology. 783-788. 5a ed. Ed. Lippincott Williams and Wilkins. EUA. 2000
16. Kreja L, Nothdurft W, Selig C, Acceleration of hematopoietic recovery in dogs after extended field partial body irradiation by treatment with colony stimulating factors: rhG-CSF and rhGM-CSF, *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. 37 (5). 1145-1154. 1997.
17. Boone T.C, Dale D.C, Donahue R.E, Hammond W.P, Souza L.M, A comparison of treatment of canine cyclic hematopoiesis with recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), G-CSF, interleukin-3, and canine G-CSF. *Blood*. 76(3): 523-532. 1990.
18. Damine T.S, Lanevski A, Lothrop Jr.C.D, Niemeyer G.P. Granulocyte colony-stimulating factor deficiency in a rottweiler with chronic idiopathic neutropenia, *J Vet Intern Med*. 13:72-75, 1999.

19. Feldman B.F, Zinkl J.G, Jain N.C. Citokine regulation of hematopoiesis. En: Schalm's veterinary hematology. 88-90. 5a ed. Ed. Lippincott Williams and Wilkins. EUA. 2000
20. Feldman B.F, Zinkl J.G, Jain N.C, Clinical use of hemopoietic growth factors. En: Schalm's veterinary hematology. 884-888. 5a ed. . Ed. Lippincott Williams and Wilkins. EUA. 2000
21. Boone T.C, Dornsife R.E, Fulton R, Gasper P.W, Ogilvie G.K. Effect of recombinant human granulocyte colony stimulating factor on hematopoiesis in normal cats, *Exp hematol.* 19(8): 759-767. 1991.
22. Carroll R.C, Lothre C.D, McClendon S, Pratt H.L, Souza L.M, Smathers E.C, Effects of recombinant granulocyte colony stimulating factor treatment on hematopoietic cycles and cellular associated with canine cyclic hematopoiesis. *Exp Hematol.* 18(11): 1199-203. 1990.
23. Keller P, Smalling R, Granulocyte colony stimulating factor; animal studies for risk assessment. *Int Rev Exp Pathol.* 173-188. 1993.

24. Canin A, Csiba E, Dale D.C, Hammond W.P, Hockman H, Layton J.E, Souza L.M, Chronic neutropenia. A new canine model induced by human granulocyte colony stimulating factor, *J Clin Invest.* 87(2):704-710. 1991.
25. Jones JB, Lothrop CD Jr, Moore MA, Souza LM, Warren DJ. Correction of canine cyclic hematopoiesis with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood.* 72(4): 1324-8. 1988.
26. Boone TC, Dale DC, Sonahue RE, Hammond WP, Souza LM. A comparison of treatment of canine cyclic hematopoiesis with recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), G-CSF interleukin-3, and canine G-CSF. *Blood* 76(3): 523-32. 1990.
27. Battaglino M, Bonne TC, Booney P, Murphy D, Reagan WJ. Antibodies to canine granulocyte colony-stimulating factor induce persistent neutropenia. *Vet pathol* 32:374-378. 1995.
28. Kreja I, Northdurft W, Selig C. Acceleration of hemopoietic recovery in dogs after extended-field partial-body irradiation by treatment with colony-stimulating factors: rhG-CSF and rhGM-CSF. *International Journal of Radiation Oncology *Biology* Physics.* 37(5): 1145-1154.1997

29. Conally HE, Hackett TB, Mazzaferro EM, Walters JM. Emergency complications associated with chemotherapeutics and cancer. *Comp contin educ pract vet.* 25(9): 676-688. 2003
30. Jones JB, Lothrop CD Jr, Moore MA, Souza LM, Warren DJ. Effects of recombinant canine granulocyte colony-stimulating factor on white blood cell production in clinically normal and neutropenic dogs. *JAVMA.* 200 (12). 1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1.-Etiologías infecciosas que inducen neutropenia en perros

Etiologías Infecciosas que Inducen Neutropenia		
Viral	Hongos	Rickettsias
Parvovirus	Histoplasma capsulatum	Ehrlichia canis
Infección temprana de Virus de hepatitis canina	Cryptococcus neoformans	
Infección temprana de Virus de Moquillo canino		

Tabla 2.-Medicamentos asociados a neutropenia y pancitopenia en perros y gatos

Medicamentos Asociados a Neutropenia y Pancitopenia en Perros y Gatos	
Albedazole	Estrógenos
Azatioprina	Griseofulvina
Captopril	Hidralazina
Carboplatino	Metimazole
Cefalosporinas	Mitoxantrona
Clorambucilo	Penicilina
Cloramfenicol	Fenobarbital
Clorpromazina	Fenilbutazona
Cimetidina	Primidona
Cisplatino	Propiltiouracil
Ciclofosfamida	Sulfonamidas
Diazoxido	Vinblastina
Dipirona	Vincristina
Doxorubicina	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 3. Descripción de los pacientes neutropénicos en el grupo tratado y control, y el tiempo de recuperación (días) del valor normal de neutrófilos en pacientes.

Grupo 1 (Tratados)

ID	DIAS DE RECUPERACION	REBOTE*	RAZA	EDAD meses	SEXO	NEUTROFILOS BASALES*
1	3	N	Poodle	3	M	0.4
2	3	N	Chihuahueño	2.5	H	0.2
3	5	N	Labrador	4	H	2
4	3	N	Poodle	3	M	1
5	3	N	Schnauzer	2	H	0.7
6	5	N	Yorkshire T.	4	M	1.2
7	5	N	Schnauzer Miniatura	3	H	0.9
8	5	N	Poodle	6	H	1.5
9	3	N	Yorkshire T.	7	M	1.1
10	3	N	Maltes	4	H	2.4

Grupo 2 (Control o Placebo)

* Los valores de neutrófilos basales al momento de ser incluidos al estudio.

ID	DIAS DE RECUPERACION	REBOTE*	RAZA	EDAD (Meses)	SEXO	NEUTROFILOS BASALES*
11	5	N	Chihuahueño	1.5	M	1.1
12	3	N	Rottweiler	3	H	2.1
13	9	N	Boxer	2	M	1.5
14	5	N	Schnauzer Min	4	H	2.1
15	11	N	Poodle	5	M	1.3
16	11	N	Rottweiler	2	H	2
17	11	N	Maltes	3	M	1.2
18	9	N	Poodle	3	M	2.3
19	11	N	Schnauzer Min.	5	H	1.7
20	9	N	Rottweiler	2	H	2.4

Tabla 4. Resumen de las medias de las variables edad, valores basales y sexos de ambos grupos (tratado y placebo)

	MEDIA		VALOR P DE LA PRUEBA T DE STUDENT
	GRUPO 1 (TRATADO)	GRUPO 2 (PLACEBO)	
EDAD (MESES)	3.85	3.5	0.22
VALORES BASALES*	1.14	1.77	0.029
SEXO	6 hembras 4 machos	5 hembras 5 machos	

* Los valores de neutrófilos basales al momento de ser incluidos al estudio

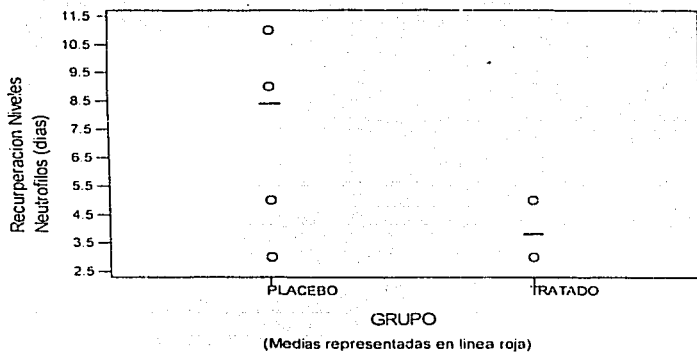
Tabla 5. Prueba T de Student e Intervalos de Confianza

GRUPO	MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR	SE MEDIA
TRATADOS	3.80	1.03	0.33
PLACEBO	3.40	2.99	0.33

T = 4.60, Valor P = 0.0008

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 6. Comparación de medias de del tiempo de recuperación (días) de los niveles de neutrófilos $>3 \times 10^9/L$ entre el grupo de perros tratados con rhG-CSF versus los que recibieron placebo



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

NO SALE
DE LA BIBLIOTECA