



## Efectividad del factor G-CSF en la prevención de la mucositis oral en pacientes que reciben altas dosis de metrotexate: estudio preliminar

*Alejandra Morón-Medina<sup>1\*</sup>, Ninoska Viera<sup>2</sup>, Thaís Morales-Rojas<sup>3</sup>, Marylenlid Isla<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Odontóloga.

<sup>2</sup>Doctora en Inmunología.

<sup>3</sup>Doctora en Odontología.

<sup>4</sup>Farmacéutica

<sup>1, 2, 3</sup>Instituto de Investigaciones, Facultad de Odontología, Universidad del Zulia.

<sup>4</sup>Cátedra de Galenica, Universidad de Los Andes, Mérida.

[alejandraisamm@gmail.com](mailto:alejandraisamm@gmail.com), [ninoskaviera@gmail.com](mailto:ninoskaviera@gmail.com), [moralesrojas@cantv.net](mailto:moralesrojas@cantv.net),  
[maryisla@ula.ve](mailto:maryisla@ula.ve).

### Resumen

**Objetivo:** Determinar la efectividad del G-CSF en la prevención de mucositis oral en pacientes que reciben altas dosis de metotrexate. **Métodos:** Se realizó un ensayo clínico-controlado-aleatorio-doble ciego, en 16 de pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda que recibieron metotrexate, entre 4-19 años de edad, los cuales fueron divididos aleatoriamente en dos grupos, 8 pacientes recibieron el G-CSF más solución wonder y 8 pacientes recibieron un placebo más solución wonder. A todos los pacientes se les realizaron evaluaciones clínicas durante 5 días consecutivos para determinar las condiciones orales. **Resultados:** Una vez recibido el metotrexate, solo el 12.5% de los pacientes del grupo experimental desarrolló lesión mucosal de tipo eritematosa. En tanto que el 62.5% del grupo control presentaron lesión bucal, donde el 12,5% fueron de tipo eritematoso y el 50% eran de tipo ulcerativas. En cuanto al tiempo de aparición de las lesiones, ambos grupos desarrollaron la lesión de tipo eritematosa entre el tercer y cuarto día, en tanto que las úlceras se presentaron entre el cuarto y quinto día. **Conclusiones:** Estos hallazgos sugieren que el uso del G-CSF puede ser una alternativa de

\* Autor para la correspondencia. Calle 65 esquina avenida 19 Edif. Ciencia y Salud. Tercer piso. Instituto de Investigaciones de la Facultad de Odontología. Maracaibo 4001, Venezuela. Teléfono: 58 261 4127346. Fax 58-02614127347.

tratamiento local para disminuir la incidencia de mucositis en pacientes que reciben altas dosis de metotrexate.

**Palabras clave:** G-CSF, mucositis oral, metotrexate, Leucemia Linfoblástica Aguda.

## *The Effectiveness of G-CSF in Preventing Oral Mucositis in Patients Receiving High Doses of Methotrexate: Preliminary Study*

### **Abstract**

**Objective:** To determine the effectiveness of G-CSF for preventing oral mucositis in patients receiving high-doses of methotrexate. **Methods:** A clinical assay-controlled-randomized-doble blind test was carried out on 16 patients between 4 and 19 years of age with acute lymphoblastic leukemia who received methotrexate. The patients were divided randomly in two groups: 8 patients received the G-CSF plus wonder solution and 8 patients received placebos plus wonder solution. All patients underwent clinical evaluations for 5 consecutive days to determine their oral conditions. **Results:** Once they received the methotrexate, only 12.5% of the patients in the experimental group developed mucosal lesions of the erythematous type, while 62.5% of the control group presented oral lesions, 12.5% of the erythematous type and 50% of the ulcerative type. In terms of the time when the lesions appeared, both groups developed the erythematous-type lesions between the third and fourth days, while ulcers appeared between the fourth and fifth days. **Conclusions:** These findings suggest that the use of G-CSF may be an alternative for local treatment to decrease the incidence of mucositis in patients receiving high doses of MTX.

**Keywords:** G-CSF, oral mucositis, methotrexate, Acute Lymphoblastic Leukemia.

### **Introducción**

Las complicaciones orales son uno de los principales problemas de la terapia de los pacientes con cáncer. Un 40% de los pacientes que reciben quimioterapia (QT) y hasta un 76% de los pacientes trasplantados de médula ósea, desarrollan problemas bucales, siendo el efecto secundario más frecuente, la mucositis oral<sup>1, 2</sup>.

La QT o fármacos antineoplásicos como el metotrexate (MTX), 5-fluorouracilo, doxorubicina, actinomicina D, entre otros, cuando son administrados a dosis elevadas probable-

mente causan más episodios de mucositis oral, que cuando se prescriben por vía oral<sup>3</sup>.

La mucositis oral, descrita como una injuria de la barrera mucosal (IBM) constituye un proceso patobiológico, dinámico y complejo<sup>4</sup>, que se caracteriza por inflamación y ulceración dolorosa ocasionada por la interacción de las células y tejidos de la mucosa bucal con factores locales como la saliva, microflora bucal y citocinas pro-inflamatorias<sup>5</sup>, que aparece frecuentemente en zonas no queratinizadas. La mucositis puede presentar diferentes grados de severidad, desde un mínimo eritema, edema o sensación de quemazón hasta

grandes y dolorosas úlceras que limitan las funciones orales básicas y que pueden incluso causar la interrupción del tratamiento oncológico<sup>6-8</sup>. Para la medición de los grados de mucositis existen diferentes sistemas que varían en complejidad, el más completo y complejo lo constituye el propuesto por Sonis<sup>9</sup>, el cual describe el desarrollo y resolución de la mucositis en cinco fases: una fase de iniciación y una fase de respuesta de daño primario, no perceptibles clínicamente; una fase de señales de amplificación, una fase ulcerativa o bacteriológica y una fase curativa.

La Fase de Iniciación, se produce inmediatamente después de la administración en bolo del MTX; daños iniciales al ADN pueden causar la muerte inmediata en el epitelio de células basales y de células de la submucosa, pero la muerte celular clonal cuenta solo para un número pequeño de células y no es de magnitud suficiente para provocar la lesión extensa que caracteriza las lesiones clínicas de la mucositis. Durante la Fase de Respuesta de Daño Primario, se activan factores de transcripción que median la expresión génica, síntesis y liberación de mediadores biológicamente activos que impactan la viabilidad del epitelio basal. Entre los más importantes y bien estudiados en cuanto al desarrollo de la mucositis se encuentra el NF- $\kappa$ B, el cual es un importante regulador de citocinas pro-inflamatorias, como el TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6. Estas proteínas son mediadores efectivos de la lesión, y el aumento de los niveles en los tejidos y sangre periférica se correlacionan bien con toxicidades no hematológicas inducidas por la quimioterapia. En la Fase de Señal de Amplificación, la producción de proteínas potencia la activación de dos mecanismos, uno inductor del daño a la célula blanco y el otro modula el proceso de señalización y amplificación, luego de la injuria inicial. Mientras que en la Fase Ulcerativa, se observan clínicamente lesiones

en boca, cubiertas por exudado de fibrina, llamada también pseudomembrana, siendo la responsable del dolor y la pérdida de la función que acompaña a la mucositis. Finalmente, durante la Fase Curativa, las señales de la matriz extracelular dirigen a las células epiteliales a emigrar, proliferar y diferenciarse por debajo de la pseudomembrana superficial para formar una superficie en la herida intacta, sanando espontáneamente entre dos a tres semanas.

En la literatura sobre el tema del manejo de la mucositis, se basa más en la experiencia clínica que en ensayos clínicos controlados, siendo tema de mucha controversia. No hay fármacos que puedan prevenir la aparición de mucositis, los que se han estudiado se limitan a reducir su severidad, a controlar el dolor y a eliminar los microorganismos involucrados<sup>10</sup>, entre estos se incluyen, antimicrobianos tópicos, vitaminas, enjuagues paliativos, suplementos de aminoácidos, crioterapia y láser, entre otros. La introducción de citocinas como el factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) y el factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF), agentes cito-protectores ofrecen nuevas expectativas en el tratamiento de la mucositis<sup>11-13</sup>.

El GM-CSF, pertenece una familia de glicoproteínas con actividad hormonal que regulan la producción y diferenciación de células sanguíneas y que además son capaces de estimular la actividad de las células efectoras<sup>12</sup>.

Mantovani y col.<sup>14</sup> demostraron que la aplicación tópica del factor estimulador de colonias granulocitos-macrófagos (GM-CSF) es efectiva para la mucositis oral en pacientes con cáncer de cabeza y cuello. Por otra parte, Sonis y col.<sup>15</sup> han demostrado la efectividad de la IL-11 en el tratamiento de la mucositis inducida por QT.

Todos estos hallazgos condujeron a determinar la efectividad del factor G-CSF en la prevención de mucositis oral en pacientes que reciben altas dosis de metotrexate.

## **Materiales y métodos**

### **Pacientes**

La muestra estuvo conformada por 16 niños y adolescentes entre 4 a 19 años de edad ( $\bar{x} = 10.5 \pm 5.1$ ), de los cuales 6 eran del sexo masculino y 10 del femenino, con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) que recibían 2-3 g/m<sup>2</sup> de metotrexate y asistían a la Unidad de Oncología Pediátrica de la Fundación Hospital Especialidades Pediátricas de Maracaibo (FHEP). Todos los pacientes recibían solución wonder (antiácido, antialérgico y antimicótico), los cuales fueron divididos aleatoriamente en dos grupos, 8 pacientes recibieron adicionalmente el factor G-CSF (grupo experimental) y 8 pacientes recibieron un placebo (grupo control). Este estudio fue aprobado por el Comité de Bioética del FHEP y cada uno de los padres o representantes de los sujetos que participaron en el estudio firmaron un consentimiento informado, luego de explicarles el propósito del mismo.

Como criterio de exclusión se consideraron, sujetos con procesos inflamatorios agudos y crónicos en sitios diferentes a la cavidad bucal y sujetos que presentaban condiciones orales inadecuadas: caries activas y procesos periodontales severos (inflamación gingival grado 3, según los criterios clínicos de Loe & Silness)<sup>16</sup>.

### **Preparación del enjuague bucal con G-CSF**

Se preparó un enjuague bucal viscoso sobre la base de una solución acuosa de carboximetilcelulosa al 2% de la siguiente manera:

0,1 g de carboximetilcelulosa de sodio, 120 mg 0,4 mL r-metHuG-CSF (filgrastim); oleo cítrico gtt. 1, 5.0 mL de agua purificada. El enjuague utilizado como placebo se le sustituyó el filgrastim por 0,4 ml de agua purificada.

### **Diseño experimental**

Se realizó un ensayo clínico-controlado-aleatorio-doble ciego. El enjuague bucal (G-CSF y placebo) fue administrado durante 3 días consecutivos, iniciándose a las 12 horas de haber recibido las altas dosis de MTX, momento donde se inicia la máxima concentración sanguínea. Cada paciente y su representante recibieron instrucciones acerca de cómo realizar el enjuague: tres veces al día (mañana, mediodía y noche antes de dormir) después de haberse realizado el cepillado dental, manteniendo la solución aproximadamente 1 minuto en boca y evitar la ingesta de alimentos por lo menos 1 hora después de su aplicación.

### **Evaluación clínica**

La evaluación clínica fue realizada por un odontólogo, debidamente entrenado y calibrado para la detección del índice gingival y de placa, para medir la confiabilidad intraexaminador se utilizó el coeficiente de Kappa (IG= 0.80); a su vez fue entrenado para la evaluación de signos y síntomas de la mucositis oral donde se consideraron los hallazgos clínicos de las fases de la mucositis propuestos por Sonis<sup>9</sup>. La evaluación clínica se realizó durante 5 días consecutivos, de las cuales una fue realizada antes de recibir el MTX y las otras una vez iniciada la aplicación del enjuague bucal; las mismas se realizaron utilizando un espejo bucal plano y bajo luz halógena, inicialmente fueron evaluados los tejidos blandos, utilizando gasa para separar labios, carrillos y lengua y observar toda la mucosa oral. Posteriormente, se evaluó el estado gingival utilizando el índice gingival (IG) de Loe & Sil-

ness<sup>16</sup> y el estado de higiene oral mediante los criterios del índice de placa (IP) de Silness & Loe<sup>17</sup>. En dentición primaria se evaluaron los dientes 54, 64, 74, 84, 81 y 71; en la permanente se evaluaron los dientes 16, 26, 36, 46, 31, 41 y en casos de dentición mixta en el sector anterior se sustituyeron por el permanente sucesivo y en el sector posterior se evaluaron los primeros molares permanentes. Todas las evaluaciones, se llevaron a cabo después de la higiene oral. Para el registro de los signos de la mucositis se consideraron los hallazgos clínicos de las fases propuestas por Sonis<sup>9</sup>.

Al momento de la evaluación se registraron además los efectos tóxicos y el grado de dificultad en la administración del medicamento G-CSF.

### Análisis estadístico

Todos los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico SPSS versión 15, inicialmente se realizó el análisis descriptivo de los datos. Las comparaciones entre los grupos se realizó mediante la prueba de *t test* no pareada. Se consideraron diferencias estadísticamente significativa los valores de  $p < 0.05$ .

## Resultados

Un total de 80 evaluaciones clínicas fueron realizadas, de las cuales 40 se efectuaron al

grupo de pacientes que recibía el G-CSF y la solución wonder y 40 a los que recibieron la solución wonder más placebo. Al aplicar la prueba estadística descriptiva se observa que 12.50 % (n=1) de los pacientes del grupo experimental desarrollaron lesión en la mucosa oral en algún momento de la evaluación clínica, una vez recibido el MTX; en tanto que el 87.50 % (n=7) no presentó lesión mucosal. Mientras que en el grupo control, se observó el 62.50 % (n=5) de pacientes con lesión y en el 37.5 % (n=3) no se evidenciaron hallazgos clínicos, bajo las mismas condiciones.

El Gráfico 1, muestra los diferentes tipos de lesiones que presentaron los pacientes con LLA que recibieron altas dosis de MTX.

En cuanto a la cantidad de lesiones ulcerativas presentes en el grupo control se observa que el 25% (n=1) fueron confluyentes y en el 75% (n=3) eran aisladas.

En el caso del tiempo de aparición de las lesiones a nivel bucal de ambos grupos de estudio, el eritema apareció entre el tercer y cuarto día de haber recibido el MTX, en tanto que las úlceras se presentaron entre el cuarto y quinto día de haber recibido el MTX, lo cual pudiera estar coincidiendo con lo propuesto por Sonis.

La comparación en cuanto a la presencia o ausencia de lesiones bucales en ambos grupos se observan en el Gráfico 2.

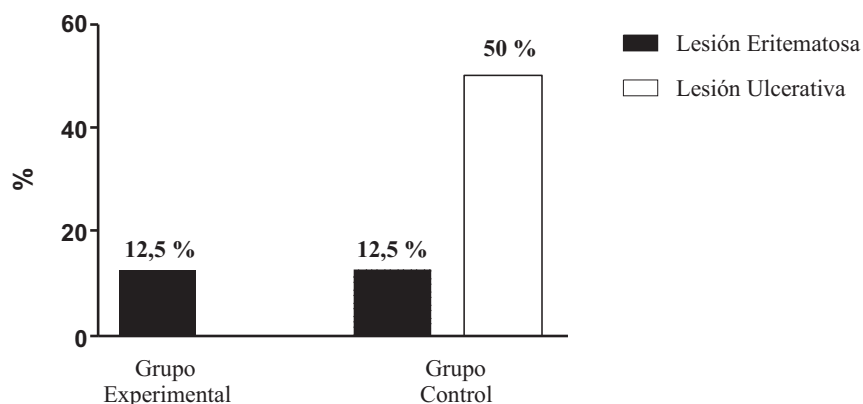
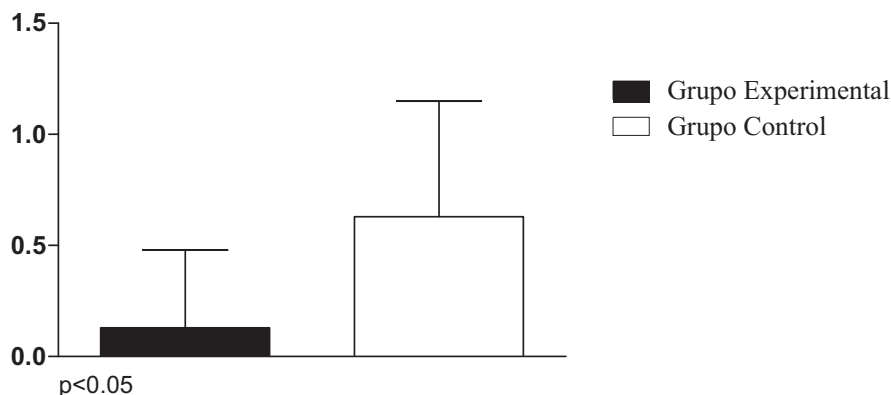


Gráfico 1. Tipos de lesión oral según los grupos de estudio.





**Gráfico 2.** Comparación de lesiones orales inducidas por altas dosis de MTX en pacientes con diagnóstico de LLA.

## Discusión

Según Schneider y col.<sup>18</sup> y Kantano y col.<sup>19</sup> el G-CSF ha demostrado ser eficaz, por lo que se puede utilizar como una alternativa para la prevención de la mucositis oral debido a que estimula la proliferación de las células basales de la mucosa<sup>20</sup>, estos hallazgos pudieran estar coincidiendo con los evidenciados en este estudio. Al evaluar la presencia o no de mucositis oral en ambos grupos, los resultados coinciden con Karthaus M. y col.<sup>21</sup> quienes reportaron una mayor incidencia de lesiones de mucositis en los pacientes del grupo control en relación al grupo que recibió el G-CSF. Al mismo tiempo nuestros resultados apoyan lo reportado por dicho autor en cuanto a la incidencia de la mucositis en la aplicación local del factor, este efecto es posible a la activación local de los neutrófilos por G-CSF, ya que se conoce que este factor estimula la migración, fagocitosis y actividad citotóxica de los neutrófilos<sup>20, 22</sup>.

Nuestro estudio evidenció que tanto el grupo experimental como el grupo control presentaron lesiones de tipo eritematoso, este tipo de lesión coincide con la segunda y tercera fase de la mucositis propuesta por Sonis<sup>9</sup>, las cuales indican que es donde se da el comienzo de señales de amplificación que inducen el daño a la

célula blanco. Por otra parte, Sonis<sup>9</sup> señala que en la cuarta fase de la mucositis hay destrucción de la integridad epitelial, por lo que se observan clínicamente lesiones de tipo ulcerativa, coincidiendo esto con lo observado en el grupo control del presente estudio.

Finalmente, los resultados obtenidos sugieren que el uso del factor G-CSF puede ser una alternativa de tratamiento local para disminuir la incidencia de mucositis en pacientes que reciben altas dosis de MTX. Todos estos hallazgos demuestran, que estudios futuros deberían ser llevados a cabo con un mayor número de sujetos que permitan corroborar la posibilidad de utilizar el factor G-CSF como tratamiento preventivo en pacientes que reciben quimioterapias susceptibles a presentar episodios de mucositis, al mismo tiempo se sugiere realizar investigaciones que evalúen el tiempo de recuperación de las lesiones una vez recibido el factor.

## Agradecimiento

Al Consejo de desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) por su aporte financiero, a la Fundación Hospital Especialidades Pediátricas y a la Universidad de los Andes, Escuela de Farmacia por su valiosa contribución para la ejecución de esta investigación.

## Referencias

1. Sonis ST. Oral mucositis. *Anticancer Drugs* 2011; 22(7):607-12.
2. Raber-Durlacher JE, Elad S, Barasch A. Oral mucositis. *Oral Oncol* 2010; 46(6):452-6.
3. Castell P, Basté M, Creus M, Del pino B, Gómez C, Gómez A y col. Prevención y tratamiento de la mucositis en el paciente onco-hematológico. *Farmacia Hosp* 2001; 25(3): 139-149.
4. Blijlevens NM, Donnelly JP, De Pauw BE. Mucosal barrier injury: biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy: an overview. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25(12): 1269-78.
5. Sonis ST, Scherer J, Phelan S, Lucey CA, Barron J.E, O'Donnell KE y col. The gene expression sequence of radiated mucosa in an animal mucositis model. *Cell Prolif* 2002; 35(1): 93-102.
6. Donnelly JP, Bellm LA, Epstein JB, Sonis ST, Symonds RP. Antimicrobial therapy to prevent or treat oral mucositis. *Lancet Inf Dis* 2003; 3:405-12.
7. Volpato LE, Silva TC, Oliveira TM, Sakai VT, Machado MA. Radiation therapy and chemotherapy-induced oral mucositis. *Braz J Otorhinolaryngol* 2007; 73(4): 562-8.
8. Rubenstein EB, Peterson DE, Schubert M, Keefe D, McGuire D, Epstein J y col. Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. *Cancer* 2004; 100:2026-46.
9. Sonis ST. Pathobiology of Oral Mucositis: Novel Insights and Opportunities. *J Support Oncol* 2007; 5(9 Suppl 4):3-11.
10. Silvestre-Donat FJ, Puente SA. Efectos adversos del tratamiento del cáncer oral. *Av Odontoestomatol* 2008; 24(1): 111-121.
11. Clarkson JE, Worthington HV, Eden OB. Interventions for treating oral mucositis for patients with cancer receiving treatment. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; (2):CD001973.
12. Straka C, Sandherr M, Salwender H, Wandt H, Metzner B, Hübel K y col. Testing G-CSF responsiveness predicts the individual susceptibility to infection and consecutive treatment in recipients of high-dose chemotherapy. *Blood* 2011; 117(7):2121-8.
13. Alterio D, Jerezek-Fossa BA, Fiore MR, Piperno G, Ansarin M, Orecchia R. Cancer treatment-induced oral mucositis. *Anticancer Res.* 2007; 27(2):1105-25.
14. Mantovani G, Massa E, Astara G, Murgia V, Gramignano G, Lusso MR y col. Phase II clinical trial of local use of GM-CSF for prevention and treatment of chemotherapy and concomitant chemoradiotherapy induced severe oral mucositis in advanced head and neck cancer patients: an evaluation of effectiveness, safety and cost. *Oncol Rep* 2003; 10(1): 197-206.
15. Sonis ST, Peterson RL, Edwards LJ, Lucey CA, Wang L, Mason L y col. Defining mechanisms of action of interleukin-11 on the progression of radiation induced oral mucositis in hamsters. *Oral Oncol* 2000; 36(4):373-81.
16. Loe H, Silness J. Periodontal Disease in pregnancy. *Act Odont Scand* 1963; 21:533-8.
17. Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. *Act Odont Scand* 1964; 22:121-8.
18. Schneider SB, Nishimura RD, Zimmerman RP, Tran L, Shiplacoff J, Tormey M y col. Filgrastim (r-metHuG-CSF) and its potential use in the reduction of radiation-induced oropharyngeal mucositis: an interim look at a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Cytokines Cell Mol Ther* 1999; 5(3):175-80.

19. Katano M, Nakamura M, Matsuo T, Iyama A, Hisatsugu T. Effect of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on chemotherapy-induced oral mucositis. *Surg Today* 1995; 25(3):202-6.
20. Piret P, Deneufbourg JM. [How I treat... oropharyngeal mucositis associated with radiotherapy for head and neck cancer]. *Rev Med Liege* 2004; 59(3):120-7. Review. French.
21. Karthaus M, Rosenthal C, Huebner G, Paul H, Elser C, Hertenstein B y col. Effect of topical oral G-CSF on oral mucositis: a randomised placebo-controlled trial. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22(8):781-5.
22. Rodríguez NZ, Tordecilla JC, Campbell MB, Joannon PS, Rizzardini CL, Soto VA y col. Utilidad del factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) en episodios de neutropenia febril de alto riesgo en niños con cáncer. *Rev Chil Infect* 2005; 22(3): 223-227.