

616.155-085:612.119

HEMOPOETICKÉ RŮSTOVÉ FAKTORY (Literární přehled)

Kpt. MUDr. Stanislav FILIP, RNDr. Jiřina VÁVROVÁ, CSc.,
pplk. MUDr. Ladislav JEBAVÝ, CSc., plk. doc. MUDr. Milan BLÁHA, CSc.,
Vojenská lékařská akademie JEP, Hradec Králové
(rektor: plk. prof. MUDr. Josef Fusek, DrSc.)

Do skupiny cytokinů, které mají přímý vztah k procesu hematopoézy zahrnujeme kolonie stimulující faktory a to především faktor, který stimuluje tvorbu primitivních kmenových buněk, označovaný jako SCF (stem cell factor), růstový faktor, který stimuluje tvorbu kolonií neutrofilních granulocytů a makrofágů GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor), tvorbu kolonií neutrofilních granulocytů G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) a tvorbu kolonií makrofágů M-CSF (macrophage colony stimulating factor). Dále sem patří skupina interleukinů IL-1 až IL-6. V současné době jsou již známy další interleukiny, které mají přímý vztah jak k hematopoéze, tak působí na již zralé buňky IL-7 až IL-11 (obr. 1).

Cytokiny jsou látky, které mají vlastnosti podobné hormonům. Z pohledu hematologů se o cytokinech hovoří jako o hemopoetických růstových faktorech, které regulují proliferaci a diferenciaci kmenových buněk krvetvorby, ale zároveň mohou působit na funkční aktivitu zralých myeloidních a lymfoidních buněk (2, 28).

Zásadním obratem v možnostech využití cytokinů byla příprava rekombinovaných růstových faktorů, které stimulují tvorbu kolonií in vitro (rhGM-CSF, rhG-CSF, rhM-CSF) a interleukinů (rhIL-1 až rhIL-11). Komerčně se zatím vyrábí rhIL-1 až rhIL-8 (viz tab. 1.) (32).

V současné době jsou také již známy lokalizace jednotlivých genů pro dané cytokiny (53).

Možnosti terapeutického využití cytokinů pro hematologické nemocné:

- potřeba dosažení rychlé proliferace kmenových buněk krvetvorby (např. po myelosupresi vyvolané cytostatiky nebo zářením IL-3, GM-CSF)

- stimulace proliferace hemopoetických buněk v průběhu nemoci, např. dřeňový útlum, aplastická anémie, myelofibróza, myelodysplastický syndrom (MDS), za určitých podmínek akutní myeloidní leukémie (AML), chronická myeloidní leukémie (CML), akutní lymfatická leukémie (ALL): IL-3, G-CSF, erythropoetin)

- stimulace diferenciaci a proliferace hemopoetických kmenových buněk při transplantaci kostní dřeně (alogenní i autologní: GM-CSF, G-CSF, M-CSF, IL-1, IL-3, erythropoetin)

- příznivé ovlivňování funkcí zralých buněk jak myeloidní, tak lymfoidní řady (např. při bakteriálních sepsích nebo maligních tumorech: GM-CSF, IL-1, IL-2, IL-3).

Mimo již uvedené indikace je možno cytokinů použít jako látek, které mají imunomodulační, cytotoxický, ale i protinádorový efekt.

Tabulka 1

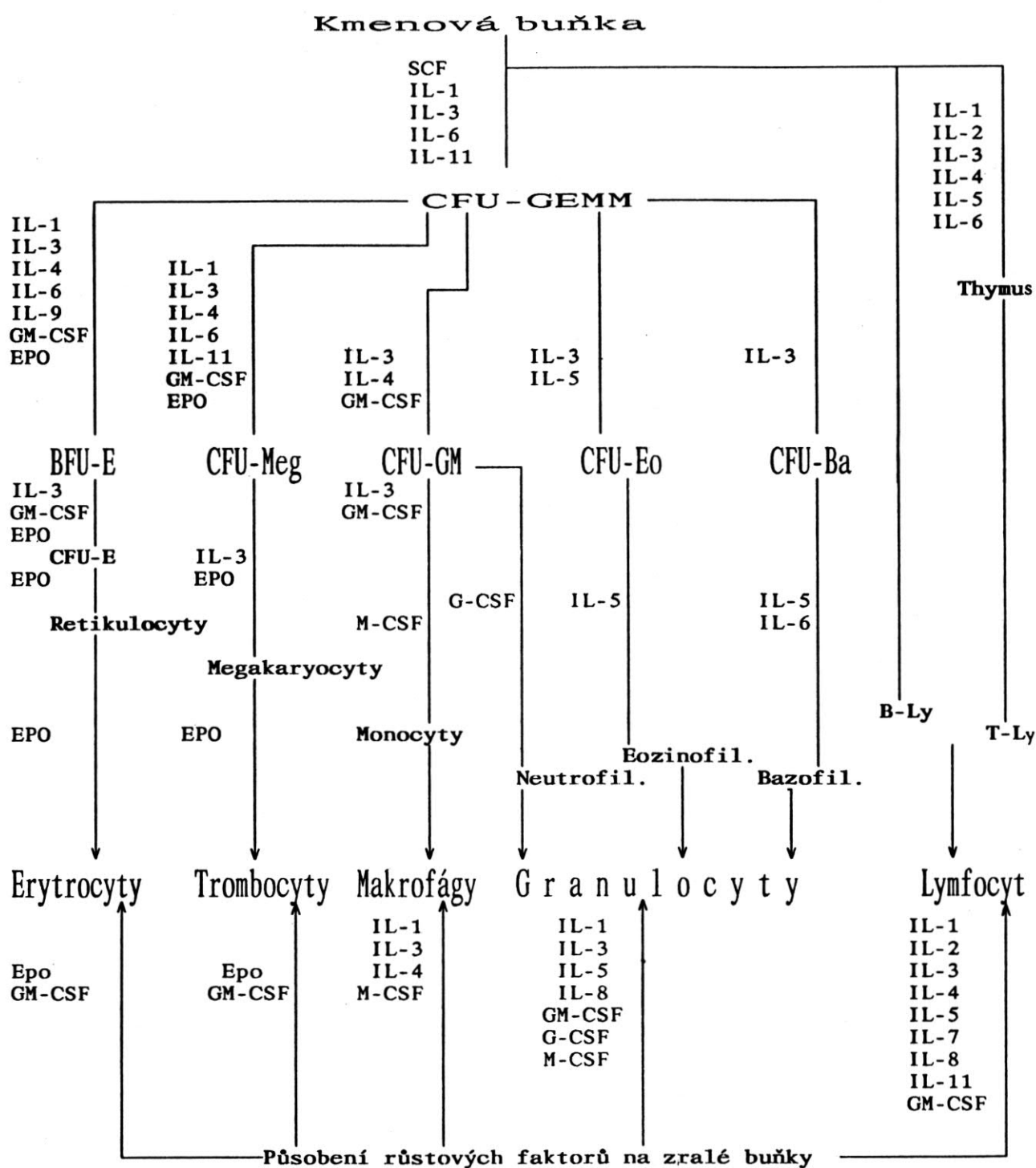
Lidské rekombinantní faktory komerčně vyráběné

Faktor	Molekulární hmotnost (kD)	Lokalizace genu na chromozomu	Optimální dávka	
			in vitro	in vivo
IL-1 alfa	18	2	50-400 pg.ml ⁻¹	
IL-1 beta	17,5	2	5-40 pg.ml ⁻¹	
IL-2	15,5	4	10-50 U.ml ⁻¹	
IL-3	15	5	5-10 ng.ml ⁻¹	100 µg.kg ⁻¹
IL-4	15,5	5	0,1-40 ng.ml ⁻¹	
IL-6	25-26 kD	7	100-1000 U.ml ⁻¹	
IL-7	17	?	1-10 ng.ml ⁻¹	
IL-8	8,5	?	50 ng.ml ⁻¹	
GM-CSF	15,5-16,8	5	10-20 ng.ml ⁻¹	32 µg.kg ⁻¹
G-CSF	17	5	5-10 ng.ml ⁻¹	60 µg.kg ⁻¹
M-CSF	18-23	5	250-500 U.ml ⁻¹	
Erythropoetin	30-40	7	2,5-10 U.ml ⁻¹	500 U.kg ⁻¹

I. Stručná charakteristika hemopoetických růstových faktorů

1. SCF - stem cell factor (růstový faktor stimulující primitivní kmenové buňky)

Je polypeptid patřící do skupiny multipotentních růstových faktorů (do této skupiny dále patří především IL-1, IL-3 a GM-CSF), který stimuluje primitivní kmenové buňky a progenitorové buňky myeloidní a lymfoidní řady (58, 95). SCF produkují převážně buňky stromatu kostní dřeně (96). V současné době byl již připraven rekombinovaný lidský rhSCF (56), který v kombinaci s jinými růstovými faktory, např. GM-CSF, G-CSF, IL-3 nebo erythropoetinem, významně zvyšuje jejich stimulační efekt na progenitorové buňky. Potřebná koncentrace k stimulování primitivních hemopoetických buněk in vitro je 100 ng.ml⁻¹ (58).



Obr. 1 Schéma působení růstových faktorů v procesu hematopoézy

2. Interleukiny (IL)

Představují skupinu faktorů, které se účastní proliferace a diferenciace hematopoetických buněk. Působí nejenom v procesu hematopoézy, ale i u jiných buněk, a to jak normálních, tak i nádorových. Vzájemná kombinace účinků interleukinů může v konečné fázi v organismu působit specificky na progenitorové buňky nebo na některé již diferencované buňky (např. T a B lymfocyty).

V kombinaci s kolonie stimulujícími faktory (GM-CSF, G-CSF a M-CSF) vytvářejí interleukiny důležitý mechanismus regulace hematopoetické aktivity organismu.

2.1 Interleukin - 1 (IL-1)

Polypeptid/glykoprotein, který se vyskytuje ve dvou polypeptidických formách - alfa a beta IL-1 (19, 21). Látka s podobnými vlastnostmi jako IL-1 byla poprvé identifikována a popsána jako endogenní pyrogen, a dále jako stimulační faktor pro thymocyty (34). Jeho mole-

kulární hmotnost je 17 kD (dalton). Rekombinovaný lidský rhIL-1 alfa má molekulární hmotnost 18 kD a rhIL-1 beta 17,5 kD. Gen pro tvorbu IL-1 se nachází na dlouhém raménku 2. chromosomu. IL-1 produkují makrofágy, epiteloidní buňky, endoteliální buňky, fibroblasty (5, 24, 42, 72, 93) a v menší míře také NK buňky, astrocyty, mesangialní buňky, Langerhansovi buňky a jiné (53).

V procesu krvetvorby působí na úrovni diferenciace kmenových buněk na CFU-GEMM (colony forming unit, granulocyte-erythrocyte-megakaryocyte-macrophage) a také v diferenciaci T a B-lymfocytů (7, 18, 20). Působí také na buňky již diferencované, např. indukuje chemotaxi makrofágů a polymorfonukleárů (32, 55). Působí také ve smyslu indukce proliferace různých typů buněk. IL-1 indukuje produkci jiných cytokinů (např. produkci GM-CSF v periferní krvi u lidských lymfocytů) (42).

V preklinických studiích byla opicím navozená neutropenie pomocí 5-fluorouracilu a následně podání rIL-1 beta v dávce $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ vedlo k urychlené obnově počtu neutrofilních granulocytů ve srovnání s kontrolní skupinou (30). Vzhledem k prokazatelně vhodným jak imunomodulačním, tak antitumorózním účinkům se klinická aplikace rhIL-1 beta jeví jako vhodná u některých solidních tumorů (53).

Optimální koncentrace pro in vitro použití potřebná k stimulaci thymocytů a T-lymfocytů je asi $50\text{--}400 \text{ pg} \cdot \text{ml}^{-1}$ u rhIL-1 alfa a $5\text{--}40 \text{ pg} \cdot \text{ml}^{-1}$ u rhIL-1 beta (32).

2.2 Interleukin - 2 (IL-2)

Je glykosilovaný peptid o molekulární hmotnosti 17,2 kD. Rekombinovaný lidský rhIL-2 má molekulární hmotnost 15,5 kD. Gen pro tvorbu IL-2 se nachází na dlouhém raménku 4. chromosomu. IL-2 je produkovaný T-lymfocyty, které jsou stimulovány antigeny nebo také mitogeny (1, 36). Ve své hemopoetické aktivitě se účastní především v procesu diferenciace B a T-lymfocytů (18). Moduluje aktivitu přirozených zabíječů buněk (NK-buněk) (39). Terapeutické využití rhIL-2 při léčbě hematologických onemocnění AML, CML a MDS atd. nemá zásadní význam. Ale ukázalo se, že využívání IL-2 má význam při léčbě některých tumorů (82). Pro imunoterapii nádorů se používají např. IL-2 aktivované lymfocyty, a to především u melanomu, karcinomu ledvin a střeva (40, 70).

Pro dosažení potřebné aktivity NK-buněk in vitro je zapotřebí nejméně 100 U (unit) $\cdot \text{ml}^{-1}$ (32).

2.3 Interleukin - 3 (Multi-CSF, IL-3)

Patří do skupiny multipotentních růstových faktorů, je to polypeptid o molekulární hmotnosti 25-28 kD. Rekombinovaný lidský rhIL-3 má molekulární hmotnost 15 kD. Gen pro IL-3 je lokalizován na 5. chromosomu v oblasti q 21-23, což je místo predisponující k delecii u myelodysplastického syndromu (MDS). IL-3 produkují aktivované T-lymfocyty (17). Je velmi důležitým faktorem v procesu krvetvorby, kde se účastní především diferenciace, ale i proliferace kmenových buněk a multipotentních prekurzorových buněk CFU-GEMM (18, 74). Uplatňuje se spolu s GM-CSF a erythropoetinem v procesu diferenciace CFU-GEMM erytroidním (BFU-E a CFU-E) a megakaryocytárním (CFU-Meg) směrem (16, 28). Za účasti GM-CSF a IL-4 a IL-5 působí v proce-

su proliferace a diferenciace progenitorů granulocytární a makrofágové řady (CFU-GM) a progenitorů bazofilních a eozinofilních granulocytů (CFU-Ba, CFU-Eo) (18, 54). Důležitou vlastností IL-3 a GM-CSF je indukce proliferace blastoidních buněk (53, 71). Jako multipotentní růstový faktor působí také na produkci a aktivitu dalších růstových faktorů, např. IL-2 k indukci sekrece IgG z aktivovaných B-lymfocytů (78), nebo aktivizaci již zralých eozinofilů, bazofilů a monocytů (16). Vzhledem k tomu, že IL-3 působí na méně zralé formy buněk a GM-CSF na formy již determinované, je vhodné tyto faktory v terapii kombinovat (snad sporná otázka je při používání GM-CSF u myeloidních leukémií). Terapeuticky můžeme velice dobře ovlivnit hematopoézu, např. po podání vysokých dávek cytostatik (10), nebo u aplastické anémie (53). Dále se ukazuje, že IL-3 bude možné také použít při rychlejší obnově krvetvorby, např. u alogenních a autologních transplantací a u některých imunodeficitních stavů (53).

Optimální koncentrace lidského rhIL-3 potřebná k vytváření kolonií in vitro je $5\text{--}10 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ (32).

2.4 Interleukin - 4 (IL-4)

IL-4 je glykoprotein o molekulární hmotnosti 20 kD. Rekombinovaný lidský rhIL-4 má molekulární hmotnost 15,5 kD. Gen pro syntézu IL-4 se nachází na dlouhém raménku 5. chromosomu. IL-4 v převážné míře produkují aktivované T-lymfocyty (53). V procesu krvetvorby se podílí spolu s IL-3 a GM-CSF při diferenciaci CFU-GEMM na CFU-GM a dále při diferenciaci T-lymfocytů (18, 68, 88). Při vzájemném působení spolu s erythropoetinem (Epo), IL-1 a IL-6 se uplatňuje také při diferenciaci progenitorů BFU-E, CFU-E a CFU-Meg (69, 73). IL-4 indukuje proliferaci již zralých B-lymfocytů, u kterých indukuje sekreci IgG (53). Může se také uplatňovat při sekreci některých růstových faktorů, např. sekrece G-CSF a M-CSF u monocytů (91), nebo také při inhibici sekrece, např. IL-1 beta a IL-6 (81). Přesné terapeutické využití IL-4 není zatím jasně určeno. Z preklinických zkušeností můžeme usoudit, že IL-4 je vhodné používat při rekonstrukci buněčné a humorální imunity při transplantaci kostní dřeně nebo také u akutní lymfoblastické leukémie (ALL) (53).

Optimální koncentrace lidského rhIL-4 potřebná k stimulaci B a T-lymfocytů in vitro je $0,1\text{--}40 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ (32).

2.5 Interleukin - 5 (IL-5)

IL-5 je polypeptid o molekulární hmotnosti 18 kD. Rekombinovaný myší rIL-5 má molekulární hmotnost 50 kD. Lidský rhIL-5 nebyl zatím komerčně vyroben. Gen pro tvorbu IL-5 se nachází na dlouhém raménku 5. chromosomu. IL-5 je produkovaný aktivovanými T-lymfocyty. V procesu krvetvorby se uplatňuje při diferenciaci CFU-GEMM na CFU-Eo a v procesu diferenciace a maturace T-lymfocytů (18, 54). IL-5 také působí na již diferencované B-lymfocyty a zvyšuje produkci IgM (64). Ovlivňuje také funkci eozinofilních granulocytů a thymocytů (32).

Optimální dávka myšího rIL-5 potřebná k stimulaci B a T-lymfocytů in vitro je asi $1\text{--}100 \text{ U} \cdot \text{ml}^{-1}$ (32).

2.6 Interleukin - 6 (IL-6)

IL-6 je polypeptid o molekulární hmotnosti 21 kD. Rekombinovaný lidský rhIL-6 má molekulární hmotnost

25-26 kD. Gen pro IL-6 se nachází na krátkém raménku 7. chromosomu. IL-6 produkují fibroblasty, makrofágy, T-lymfocyty a také některé nádorové buněčné linie (53), dále aktivované monocyt, endoteliální buňky a hepatocyty (90, 92). V procesu krvetvorby se uplatňuje především při diferenciaci kmenových buněk na CFU-GEMM (87) a dále při diferenciaci T-lymfocytů (18, 79, 92). IL-6 se také uplatňuje při diferenciaci a maturaci CFU-Meg a progenitorů pro erytroidní řadu (74). Působí také na B-lymfocyty, u kterých indukuje sekreci IgG (79). Spolu s IL-1 stimuluje proliferaci thymocytů a hepatocytů (32). Předpokládá se, že IL-6 by bylo vhodné používat v kombinaci s jinými růstovými faktory, a to při klinických stavech, kdy je potřebné indukovat zvýšení proliferace a reparace progenitorových buněk (např. injekčně podaný rIL-6 vyvolává zvýšenou produkci neutrofilních granulocytů, retikulocytů už 24 hodin po podání) (83).

Optimální koncentrace pro stimulaci sekrece imunoglobulinů a indukce proliferace B-lymfocytů *in vitro* je 10 až 100 U.ml⁻¹, pro T-lymfocyty 100-1000 U.ml⁻¹ (32).

2.7 Interleukin - 7 (IL-7)

Polypeptid o molekulární hmotnosti 17,5 kD. Rekombinovaný lidský rhIL-7 má molekulární hmotnost 17 kD. IL-7 produkují buňky stromatu kostní dřeně (53, 65). IL-7 především indukuje sekreci některých růstových faktorů potřebných k diferenciaci prekurzorů B-lymfocytů (32, 53). Uplatňuje se také jako induktor některých imunomodulačních reakcí T-lymfocytů. Experimentálně navozenou leukopenii u myši (pomocí cyklofosfamid) se podařilo normalizovat podáním rIL-7. Došlo k akceleraci repopulace lymfocytů, a to jak prekurzorů pre-B-lymfocytů, tak T-lymfocytů (60).

Optimální koncentrace rhIL-7 potřebná k *in vitro* stimulaci T-lymfocytů je 1-10 ng.ml⁻¹ (32).

2.8 Interleukin - 8 (IL-8)

IL-8 je polypeptid o molekulární hmotnosti 10 kD. Rekombinovaný lidský rhIL-8 má molekulární hmotnost 8,5 kD. IL-8 produkují především stimulované mononukleární leukocyty (94). Dále může být IL-8 produkován T-lymfocyty, které byly stimulovány mitogenem. Mohou ho produkovat fibroblasty, endoteliální buňky, keratinocyty stimulované IL-1 (52, 57, 77). *In vivo* se IL-8 uplatňuje především v indukci chemotaxe neutrofilních granulocytů a v při indukci proliferace T-lymfocytů (51).

Optimální dávka lidského rhIL-8 potřebná k stimulaci indukce chemotaxe lidských neutrofilních granulocytů *in vitro* je 50 ng .ml⁻¹ (32).

2.9 Interleukin - 9 (IL-9)

Glykoprotein izolovaný z lidských T-buněk o molekulární hmotnosti 0,9 - 1,5 kD. Gen pro tvorbu IL-9 se nachází na 5. chromosomu. V procesu krvetvorby se především uplatňuje při stimulaci proliferace progenitorů megakaryocytární a erytroidní řady (48).

2.10 Interleukin - 10 (IL-10)

IL-10 je glykoprotein produkován 1 a 2 helper buňkami (Th 1 a 2 cells) a buňkami B-lymfomu (67). V současné době byl již připravený jak myši rIL-10, tak lidský

rhIL-10 (38). Ve svém působení se uplatňuje především v procesu stimulace proliferace B-lymfocytů.

Dávka potřebná k navození stimulace B-lymfocytů *in vitro* je 100 U.ml⁻¹ rhIL-10 (38).

2.11 Interleukin - 11 (IL-11)

Polypeptid o molekulární hmotnosti 19 kD produkován buňkami stromatu kostní dřeně. Ve svém působení především zvyšuje primární a sekundární imunitní odpověď organismu na např. infekční agens. Přímou podporuje tvorbu kolonií vycházejících z multipotentních buněk. Spolu s IL-3 uvádí do buněčného cyklu kmenové buňky a dále s IL-3 synergizuje při stimulaci proliferace časných progenitorů CFU-Meg. U myši po podání 5-fluorouracilu spolu s IL-6 významně stimuluje repopulaci CFU-S (11).

3. Kolonie stimulující faktory (CSF)

Představují skupinu růstových faktorů, jejichž společnou vlastností je indukce vytváření kolonií buněk odvozených od jednotlivých progenitorů (CFU-GM, BFU-E, CFU-Meg atd.) a od multipotentních prekurzorových buněk CFU-GEMM. Dále do této skupiny patří také některé interleukiny (IL-1, IL-3, IL-4 a IL-5) a SCF. Obdobně jako interleukiny působí na proliferaci, diferenciaci a funkční aktivitu již zralých buněk. Na rozdíl od interleukinů působí víceméně specificky (např. G-CSF stimuluje diferenciaci progenitorů v neutrofilní granulocyty a M-CSF diferenciaci progenitorů v makrofágy). Naproti tomu GM-CSF působí jak při diferenciaci progenitorů v neutrofilní granulocyty, tak i při diferenciaci progenitorů v erytrocyty a megakaryocyty.

3.1 GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor)

Patří společně s IL-3 do skupiny multipotentních růstových faktorů. Jeho molekulární hmotnost je 22 kD. Rekombinovaný lidský rhGM-CSF má molekulární hmotnost 15,5-19,5 kD. Gen pro tvorbu GM-CSF se nachází v oblasti q 21-32 na 5. chromosomu (53). GM-CSF produkují monocyt, fibroblasty, endoteliální buňky a T-lymfocyty (13, 59). V hematopoéze se GM-CSF uplatňuje především při diferenciaci CFU-GEMM na CFU-GM a CFU-Eo (IL-3, IL-4 a IL-5), dále BFU-E a CFU-Meg (IL-3 a erythropoetin) (18, 32). Inhibuje migrační aktivitu neutrofilních granulocytů (31), naopak stimuluje jejich chemotaxi. Spolu s G-CSF působí na proliferaci lidských endoteliálních buněk a fibroblastů *in vitro* (14). V procesu krvetvorby a regulace funkce již zralých buněk je dále významný synergický efekt kolonie stimulujících faktorů (GM-CSF, G-CSF a M-CSF) (9, 43).

Rekombinovaný lidský rhGM-CSF byl úspěšně vyzkoušen u nemocných po cytostatické léčbě, kdy po jeho podání došlo k významnému zvýšení leukocytů (4, 27, 53, 61). S určitým úspěchem byl také použit i u nemocných s AIDS při obnovování počtu neutrofilních granulocytů (41). GM-CSF přispívá k reparaci kostní dřeně při její autologní transplantaci (10) nebo také významně urychluje regeneraci kostní dřeně u různých etiologicky vyvolaných dřeňových útlumů (53). Ukazuje

se, že terapeutické použití rhGM-CSF k normalizaci počtu neutrofilních granulocytů po cytostatické léčbě má omezení u AML, kde může působit také stimulačně na klon blastických buněk (12, 46, 50). Naproti tomu tuto vlastnost nemá G-CSF, a proto jeho terapeutické využití u AML se zdá být výhodnější (47). U MDS GM-CSF a IL-3 představují velice vhodný terapeutický doplněk (33). U nemocných s maligním lymfomem, u kterých po cytostatické léčbě nebo po celotělovém ozáření dochází k iatrogenní leukopenii, napomáhá GM-CSF reparovat kostní dřeň (44). Rychlá obnova počtu granulocytů může u nemocných, kteří nemají klonální poruchu krvetvorby, zabránit změnám ve střevní flóře a změnám normální bariérové funkce GIT. Výše uvedené změny se jeví jako rozhodující při vzniku sekundární infekce a dalších septických komplikací u nemocných léčených cytostatiky a zářením u některých solidních tumorů, např. karcinomu plic (22).

Při kultivaci kolonií CFU-GM in vitro je potřebná koncentrace GM-CSF 10-20 ng.ml⁻¹ (32).

3.2 G-CSF (granulocyte colony stimulating factor)

Je polypeptid o molekulární hmotnosti 19,6 kD. Rekombinantní lidský rhG-CSF má molekulární hmotnost 20 kD. Gen pro G-CSF je lokalizován na 17. chromosomu. G-CSF je produkován řadou buněk nádorových linií, dále ho produkují stimulované monocyt, fibroblasty a endoteliální buňky (53). V procesu krvetvorby se uplatňuje především v diferenciaci a konečné maturaci neutrofilních granulocytů (18, 59). Vzhledem k jeho vlastnostem je možno G-CSF použít při korekci neutropenie (27), u MDS (48), nebo při zvládání neutropenie při léčbě leukémie z vlasatých buněk (Hairy cell leukemia) (37). V současné době se rhG-CSF začíná používat jako stimulačního faktoru k dosažení významně zvýšeného vyplavování progenitorových buněk do periferní krve a jejich následovného odběru na separátoru (metoda má uplatnění u autologní transplantace).

Pro stimulaci vytváření kolonií in vitro je zapotřebí asi 5-10 ng.ml⁻¹ (32).

3.3 M-CSF (macrophage colony stimulating factor)

Je polypeptid o molekulární hmotnosti 45 kD. Rekombinantní lidský rhM-CSF má molekulární hmotnost 18-28 kD. Gen pro tvorbu M-CSF je lokalizován na 5. chromosomu. M-CSF produkuje aktivované monocyt, fibroblasty a endoteliální buňky (53). V procesu hemopoézy se uplatňuje při diferenciaci a konečné maturaci makrofágů (18, 59), dále aktivuje cytotoxické působení monocytů a aktivuje migraci makrofágů (63). Optimální koncentrace potřebná pro dosažení cytotoxického efektu monocytů in vitro je 250-500 U.ml⁻¹ (32).

4. Erythropoetin (Epo)

Lidský erythropoetin je glykoprotein o molekulární hmotnosti 34 kD. Rekombinovaný lidský rhEpo má molekulární hmotnost 30-40 kD. Gen pro tvorbu Epo je lokalizován na 7. chromosomu. Erythropoetin produkují specifické buňky v ledvinách, ale také hepatální buňky. V procesu krvetvorby se uplatňuje především při diferenciaci CFU-GEMM na progenitory erytroidní a mega-

karyocytární řady. Snížená tvorba erythropoetinu v ledvinách, např. u renálního selhání, má za následek vznik anémie, kterou je možno velmi dobře korigovat podáním rhEpo v dávce 50 až 100 U/kg na den (23, 53). Jako perspektivní se ukazuje používání rhEpo při stimulaci diferenciace a proliferace i jiných progenitorových buněk in vivo (29) a využívání vysokých dávek rhEpo u MDS a paroxysmální noční hemoglobinurie (75). Pro stimulaci tvorby in vitro kolonií je zapotřebí až 2,5 - 10 U.ml⁻¹ (32).

II. Možnosti terapeutického využití rhGM-CSF, rhG-CSF a rhIL-3 u hematologických nemocných

Růstové hematopoetické faktory byly zatím s úspěchem použity tam, kde:

- byla chemoterapií navozena neutropenie, jedná se především o nemocné s AML, CML, ALL, Hairy cell leukemia (leukémie z vlasatých buněk) a MDS (především RAEB - refrakterní anémie s excesem blastů)
- byla chemoterapií a zářením navozena neutropenie u nemocných s maligním lymfomem, ale také u některých maligních nádorů, které jsou citlivé na chemoterapii (např. karcinom plic, karcinom tlustého střeva atd.)
- byla chemoterapií a zářením navozena neutropenie a další léčba nemocného je realizována autologní nebo alogenní transplantací kostní dřeně.

V současné době se ukazuje, že z velké skupiny již známých růstových hematopoetických faktorů je nejvíce prosudováno klinické využití rekombinantního lidského rhGM-CSF, rhG-CSF, rhIL-3 a erythropoetinu (rhEpo). Přímý vztah k reparaci a následovné obnově kmenových buněk krvetvorby mají multipotentní růstové faktory rhGM-CSF a rhIL-3 a unipotentní růstový faktor rhG-CSF.

První zkušenosti s klinickým využitím rhGM-CSF byly získány u nemocných s inoperabilním sarkomem a recidivujícími metastázami. U těchto nemocných po cytostatické léčbě došlo k neutropenii a k normalizaci této iatrogenní neutropenie byl použit rhGM-CSF v dávce 4 až 64 μg.kg.⁻¹/den v kontinuální infúzi po dobu 10-14 dnů (53).

U akutní myeloidní leukémie byla k normalizaci neutropenie použita dávka rhGM-CSF 250 μg.m.⁻²/den v kontinuální infúzi po dobu 4 dnů (12).

U MDS byl pro normalizaci neutropenie použit rhGM-CSF v dávce 50 μg.kg.⁻¹/den v kontinuální infúzi po dobu 14 dnů (84). Po vysokých dávkách ARA-C u nemocných s MDS (RAEB) se ukázala vhodná také s.c. aplikace rhGM-CSF v dávce 2x150 μg.kg.⁻¹/den po dobu 2 týdnů (33). Vzhledem k etiologické různorodosti MDS se doporučuje podávat rhGM-CSF od 0,4 do 60 μg.kg.⁻¹/den v kontinuální infúzi po dobu 14 dnů (85, 86).

U nemocných s maligním lymfomem k normalizaci neutropenie po cytostatické léčbě by se měl rhGM-CSF podávat v dávce 200-250 μg.m.⁻²/den v kontinuální infúzi po dobu 10 dnů (44), po radioterapii v dávce 3 až 60 μg.kg.⁻¹/den v kontinuální infúzi po dobu 20 dnů (15).

Nemocným s ALL po cytostatické léčbě byl podáván rhGM-CSF v dávce 60 μg.kg.⁻¹/den v infúzích po dobu 14 dnů (8).

Při použití rhGM-CSF u aplastické anémie nebylo dosaženo očekávaných výsledků. RhGM-CSF byl podáván v dávce 4-64 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ v kontinuální infúzi po dobu 7-14 dní (3, 45).

V současné době se zdá být důležité podávání rhGM-CSF (ale také rhG-CSF) u nemocných, kterým byla provedena autologní transplantace kostní dřeně. RhGM-CSF by měl být podáván v dávce 2-32 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ v kontinuální infúzi po dobu 14 dnů (10, 66).

Samostatnou, ale důležitou skupinu onemocněných, u kterých je vhodné podávat rhGM-CSF, jsou maligní nádory (např. karcinom plic), kde pro normalizaci neutropenie používáme jak s.c., tak i.v. aplikaci rhGM-CSF (89).

Určitý léčebný úspěch byl zaznamenán u nemocných s AIDS, kde byla provedena korekce myelotoxicity Zidovudinu pomocí rhGM-CSF v dávce 8 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ v kontinuální infúzi po dobu 14 dnů (6, 41).

Vzhledem k různým terapeutickým přístupům v dávkování a době podávání rhGM-CSF se ukazuje, že nejoptimálnější i vzhledem k dalším nežádoucím účinkům (tab. 2), je dávka 32 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ v kontinuální infúzi po dobu 5-14 dní (4). Maximální tolerovaná dávka je 64 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ (76).

Tabulka 2

Nejčastější nežádoucí účinky GM-CSF, G-CSF a IL-3 při i.v. léčbě

Syndrom	GM-CSF	G-CSF	IL-3
Myalgie	+	+/-	+
Atralgie	+	+/-	+
Cefalea	+	+/-	+/-
Nauzea	+	+	+/-
Anorexie	+	+	+/-
Vomitus	+	+	+/-
Diaree	+	+	+/-
Exantém	+	+	+
Subfebrilie	+	+	+
Hypotenze	+	+	+
Tromboflebitida	+	-	+/-
Pleuritida	+	-	+/-
Perikarditida	+/-	-	+/-

Dalším důležitým hematopoetickým růstovým faktorem používaným v léčbě je rekombinovaný lidský rhG-CSF. První klinická studie s využitím rhG-CSF byla zaměřena na zvládnutí neutropenie po cytostatické léčbě u karcinomu močových cest. Použitá dávka rhG-CSF byla 1-60 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ v infúzi po dobu 5-9 dnů (25, 56). K významnému urychlení reparace krvetvorby po autologní transplantaci kostní dřeně u nemocných s Hodgkinovým lymfomem došlo po podání rhG-CSF v dávce 60 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ 24 hodin po autologní transplantaci (80).

U nemocných s leukémií z vlasatých buněk byla normalizována neutropenie podáváním rhG-CSF v dávce 1-6 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ i.v. po dobu 6 týdnů (37). Další autoři použili s.c. aplikaci rhG-CSF, a to v dávce 1 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ po dobu 2 týdnů a 6 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ po dobu 5-6 týdnů (27).

RhG-CSF je možno použít také u nemocných s MDS, kde nemůžeme dostatečně rychle zvládnout období neutropenie po předešlé cytostatické léčbě (jedná se především o nemocné s RAEB). Zde se s dobrým výsledkem používal rhG-CSF v dávce 60 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ po dobu 6 dnů v infúzi (48).

Vzhledem k vlastnostem rhG-CSF je nejoptimálnější dávka potřebná k dosažení terapeutického efektu asi 60 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ po dobu 5-10 dnů (53).

Rekombinovaný lidský rhM-CSF nebyl zatím u lidí terapeuticky použit. V preklinických zkouškách byl aplikován u opic k normalizaci počtu monocytů v dávce 50 až 100 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ v kontinuální infúzi po dobu 14 dnů (63).

IL-3 působí především na méně zralé buňky. První zkušenosti s rhIL-3 vedly k jeho použití k urychlení reparace kostní dřeně po myelosupresi vyvolané cytostatiky (cyklofosfamidem nebo 5-fluorouracilem) u primátů (35).

V klinické praxi byl rhIL-3 použit u nemocných s maligním lymfomem, kdy po cytostatické léčbě bylo zapotřebí normalizovat neutropenii (53).

RhIL-3 se používal v dávce 100 $\mu\text{g. kg}^{-1}/\text{den}$ po dobu 7-10 dnů (2). S určitým úspěchem byl rhIL-3 použit také u nemocných s aplastickou anémií (53) a dále u nemocných s AML (2, 53).

Při terapeutickém využívání růstových faktorů musíme také myslet na jejich nežádoucí účinky, které významně působí na organismus nemocného (viz tab. 2).

Závěr

Znalosti o regulaci krvetvorby zaznamenaly v posledních letech výrazný pokrok, což jsme se snažili dokumentovat výše. Jde o znalosti patofyziologické, ale i o poznatky bezprostředně směřující ke klinickému využití jak v diagnostice, tak v léčebné praxi. Po stránce klinické stojíme zatím na počátku aplikace růstových faktorů u hematologických nemocných. Tento souhrn by měl přispět nejen k sumarizaci našich znalostí, ale také k optimalizaci jednotlivých léčebných postupů u hematologických nemocných na oddělení hematologické intenzivní péče.

Souhrn

Autoři podávají přehled působení růstových faktorů v procesu krvetvorby a jejich terapeutického využití u některých hematologických onemocnění.

Hematopoetické růstové faktory jsou skupinou glykoproteinových hormonů regulujících proliferaci a diferenciaci kmenových buněk krvetvorby i funkci již zralých krevních buněk. Do této skupiny látek patří především tzv. kolonie stimulující faktory (např. GM-CSF, G-CSF, M-CSF a erythropoetin) a interleukiny (IL-1 až IL-11).

Přípravou rekombinantních lidských hematopoetických růstových faktorů se vytvořily další možnosti jejich terapeutického využití u některých onemocnění (např. aplastická anémie, myelodysplastický syndrom, ale také u onemocnění typu akutní a chronické myeloidní leuké-

mie nebo akutní lymfoblastické leukémie). Růstové faktory byly také s úspěchem použity při alogenní a autologní transplantaci kostní dřeně nebo při převodech autologních periferních kmenových buněk.

Literatura

- AARDEN, L.A. et al.: Revised nomenclature for antigen-nonspecific T-cell proliferation and helper factors. *J.Immunol.*, 123, (letter), 1979, s. 2928-2929.
- ANDREEF, M. - WELTE, K.: Hematopoietic colony-stimulating factors. *Sem.Oncol.*, 3, 1989, s. 211-229.
- ANTIN, J.H. et al.: Phase I/II study of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Blood*, 72, 1988, s. 705-713.
- ANTMAN, K.S. et al.: Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on chemotherapy-induced myelosuppression. *New Engl.J.Med.*, 10, 1988, s. 593-598.
- BAGBY, G.C. et al.: Interleukin-1 stimulates granulocyte macrophage colony-stimulating activity release by vascular endothelial cells. *J.Clin.Invest.*, 78, 1986, s. 1316-1323.
- BHALLA, K. et al.: The effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rGM-CSF) on 3-azido-3-deoxythymidine (AZT)-mediated biochemical and cytotoxic effects on normal human myeloid progenitor cells. *Exp.Hematol.*, 17, 1989, s. 17-20.
- BILLIPS, L.G. et al.: Bone marrow stromal cell regulation of B lymphopoiesis: Interleukin-1 (IL-1) and IL-4 regulate stromal cell support of pre-B cell production in vitro. *Blood*, 3, 1990, s. 611-619.
- BLAZER, B.R. et al.: In vivo administration of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in acute lymphoblastic leukemia patients receiving purged autografts. *Blood*, 73, 1989, s. 849-857.
- BOT, F.J. et al.: Synergic effects between GM-CSF and G-CSF or M-CSF on highly enriched human marrow progenitor cells. *Leukemia*, 5, 1990, s. 325-328.
- BRANDT, S.J. et al.: Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on hematopoietic reconstitution after high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation. *N.Engl.J.Med.*, 318, 1988, s. 869-876.
- BRUNO, E. et al.: Effects of recombinant interleukin-11 on human megakaryocyte progenitors cells. *Exp.Hematol.*, 19, 1991, s. 378 až 383.
- BUECHNER, W. et al.: Recombinant human GM-CSF following chemotherapy in high-risk AML. *Bone Marrow Transpl.*, 6, 1990, s. 131-134.
- BURGESS, A.W. - METCALF, D.: The nature and action of granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Blood*, 56, 1980, s. 947-958.
- BUSSOLINO, F. et al.: Granulocyte and granulocyte-macrophage colony stimulating factors induce human endothelial cells to migrate and proliferate. *Nature*, 337, 1989, s. 471-473.
- BUTTURINI, A. et al.: Use of recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the Brazil radiation accident. *Lancet*, 2, 1988, s. 471-475.
- CANNISTRA, S.A. et al.: Human granulocyte-monocyte colony-stimulating factor and interleukin-3 stimulate monocyte cytotoxicity through a tumor necrosis factor-dependent mechanism. *Blood*, 71, 1988, s. 672-676.
- CERNY, J.: Stimulation of bone marrow haematopoietic stem cells by a factor from activated T-cells. *Nature*, 249, 1974, s. 63-66.
- CLARK, S.C. - KAMEN, R.: The human hematopoietic colony stimulating factor. *Science*, 236, 1987, s. 1229-1237.
- CONSTINE, L.S. et al.: Interleukin-1 α stimulates hemopoiesis but not tumor cell proliferation and protect mice from lethal total body irradiation. *Int.J.Rad.Oncol.Biol.Phys.*, 20, 1990, s. 447-456.
- DINARELLO, C.A. et al.: Multiple biological activities of human recombinant Interleukin 1. *J.Clin.Invest.*, 77, 1986, s. 1734-1739.
- DINARELLO, C.A. - SAVAGE, N.: Interleukin-1 and its receptor. *Crit.Rev.Immunol.*, 9, 1989, s. 1-20.
- DRINGS, P. - FISCHER, J.R.: Biology and clinical use of GM-CSF in lung cancer. *Lung*, Springer-Verlag New York, 1990, s. 1059 až 1068.
- ESCHBACH, J.W. et al.: Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. Results of a combined phase I and II clinical trial. *New Engl.J.Med.*, 316, 1987, s. 73-78.
- FIBBE, W. et al.: Interleukin-1 (22-K factor) induces release of granulocyte-macrophage colony-stimulating activity from human mononuclear phagocytes. *Blood*, 68, 1986, s. 1316-1321.
- GABRILOVE, J.L. et al.: Effect of granulocyte colony-stimulating factor on neutropenia and associated morbidity due to chemotherapy for transitional-cell carcinoma of the urothelium. *New Engl.J.Med.*, 318, 1988, s. 1414-1422.
- GABRILOVE, J.L. et al.: Phase I study of granulocyte colony-stimulating factor in patients with transitional cell carcinoma of the urothelium. *J.Clin.Invest.*, 82, 1988, s. 1454-1461.
- GABRILOVE, J.L. - Jakubowski, A.: Granulocyte colony-stimulating factor: Preclinical and clinical studies. *Hematol.Oncol.Clin.North.Am.*, 3, 1989, s. 427-440.
- GABRILOVE, J.L.: Introduction and overview of hematopoietic growth factors. *Sem.Hematol.*, 26, 1989, s. 1-4.
- GANSER, M. et al.: In vivo effects of recombinant human erythropoietin on circulating human hemopoietic progenitor cells. *Exp. Hematol.*, 17, 1989, s. 433-435.
- GASPARETTO, C. et al.: Effects of IL-1 on hematopoietic progenitors: Evidence of stimulatory and inhibitory activities in a primate model. *Blood*, 74, 1989, s. 547-549.
- GASSON, et al.: Purified human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Direct action on neutrophils. *Science*, 226, 1984, s. 1339-1342.
- Genzyme catalog: Cytokine Research Products. American Academy of Arts and Sciences, 1991, s. 5-153.
- GERHARTZ, H.H. et al.: Low dose Ara-C plus granulocyte-macrophage colony stimulating factor for the blasts. 16th annual meeting of the EBMT, The Hague, Netherlands, 1990, May 6-9.
- GERY, I. - WAKSMAN, B.H.: Potentiation of T-lymphocyte response to mitogens. II. The cellular source of potentiating mediators. *J.Exp.Med.*, 136, 1972, s. 143-148.
- GILLIO, A.P. et al.: IL-3 prevents neutropenia following 5-fluorouracil and cyclophosphamide-induced myelosuppression in cynomolgus monkeys. *Blood*, 72, 1988, s. 380-386.
- GILLIS, S. et al.: Molecular characterization of interleukin 2. *Immunol.Rev.*, 63, 1982, s. 167-209.
- GLASPY, J.A. et al.: Therapy for neutropenia in hairy cell leukemia with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Ann.Int.Med.*, 109, 1988, s. 789-795.
- GO, N.F. et al.: Interleukin-10, a novel B cell stimulatory factor: Unresponsiveness of X chromosome-linked immunodeficiency B cells. *J.Exp.Med.*, 12, 1990, s. 1625-1631.
- GRIMM, E.A. et al.: Lymphokine-activated killer cell phenomenon: Precursor phenotype is serologically distinct from peripheral T lymphocytes, memory cytotoxic-derived lymphocytes, and natural killer cells. *J.Exp.Med.*, 157, 1983, s. 884-892.
- GRIMM, E.A.: Human lymphokine activated killer cells (LAK cells) as a potential immunotherapeutic modality. *Biochim.biophys.Acta*, 866, 1986, s. 267-279.
- GROOPMAN, J.E. et al.: Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on myelopoiesis in the acquired immunodeficiency syndrome. *New Engl.J.Med.*, 317, 1987, s. 593-598.
- HERMANN, F. et al.: Interleukin-1 stimulates T-lymphocytes to produce granulocyte-monocyte colony-stimulating factor. *J.Clin.Invest.*, 81, 1988, s. 1415-1418.
- HARRA, H. - NAMIKI, M.: Mechanism of synergy between granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and granulocyte colony-stimulating factor in colony formation from human marrow cells in vitro. *Exp. Hematol.*, 17, 1989, s. 816-821.
- HO, A.D. et al.: activation of lymphocytes induced by recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with malignant lymphoma. *blood*, 75, 1990, s. 203-212.
- CHAMPLIN, R.E. et al.: Treatment of refractory aplastic anemia with recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 73, 1988, s. 694-699.
- JINNAI, I.: In vitro growth response to G-CSF and GM-CSF by bone marrow cells of patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia Res.*, 14, 1990, s. 227-240.

47. KELLEHER, C. et al.: Synergism between recombinant growth factors, GM-CSF and G-CSF, acting on the blast cells of acute myeloblastic leukemia. *Blood*, 69, 1987, s. 1498-1503.
48. KELLEHER, C. et al.: Human interleukin-9: Genomic sequence, chromosomal location, and sequences essential for expression in human T-cell leukemia virus (HLTV)-I-transformed human T cells. *Blood*, 7, 1991, s. 1436-1441.
49. KOBAYASHI, Y. et al.: Treatment of myelodysplastic syndromes with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: A preliminary report. *Am.J.Med.*, 86, 1989, s. 178-182.
50. KOENIGSMANN, M. et al.: Reversible leukemic regrowth under GM-CSF treatment after chemotherapy for AML. *Leukemia Res.*, 15, 1991, s. 37-41.
51. LARSEN, C.B. et al.: The neutrophil-activating protein (NAP-1) is also chemotactic for T lymphocytes. *Science*, 243, 1989, s. 1464-1466.
52. LARSEN, C.B. et al.: Production of interleukin-8 by human dermal fibroblasts and keratinocytes in response to interleukin-1 or tumor necrosis factor. *Immunology*, 68, 1989, s. 31-36.
53. LAVER, J.- Moore, M.A.S.: Clinical use of recombinant human hematopoietic growth factors. *J.Natl.Cancer.Inst.*, 81, 1989, s. 1370-1382.
54. LI Lu et al.: Influence of interleukins 3,5, and 6 on the growth of eosinophil progenitors in highly enriched human bone marrow in the absence of serum. *Exp.Hematol.*, 18, 1990, s. 1180-1186.
55. LUGER, T.A. et al.: Chemotactic properties of partially purified human epidermal cell-derived thymocyte-activating factor (ETAF) for polymorphonuclear and mononuclear cells. *J. Immunol.*, 131, 1983, s. 816-820.
56. MARTIN, E. et al.: Primary structure and functional expression of rat and human stem cell factor DNAs. *Cell*, 63, 1990, s. 203-207.
57. MATSUSHIMA, K. et al.: Molecular cloning of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF) and the induction of MDNCF mRNA by interleukin-1 and tumor necrosis factor. *J.Exp.Med.*, 167, 1988, s. 1883-1893.
58. Mc NIECE, I.K. et al.: Recombinant human stem cell factor synergises with GM-CSF, G-CSF, IL-3 and Epo to stimulate human progenitor cells of the myeloid and erythroid lineages. *Exp. Hematol.*, 19, 1991, s. 226-231.
59. METCALF, D.: The molecular biology and functions of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 67, 1986, s. 257-267.
60. MORRISSEY, P.J. et al.: Administration of IL-7 to mice with cyclophosphamide-induced lymphopenia accelerates lymphocyte repopulation. *J.Immunol.*, 146, 1991, s. 1547-1552.
61. MORSTYN, G. et al.: Early clinical trials with colony-stimulating factor. *Cancer Invest.*, 7, 1989, s. 443-456.
62. MOTOYOSHI, K. et al.: Protective effect of partially purified human urinary colony-stimulating factor on granulocytopenia after antitumor chemotherapy. *Exp.Hematol.*, 14, 1986, s. 1069-1075.
63. MUFSON, R.A. et al.: Macrophage colony-stimulating factor enhances monocyte and macrophage antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. *Cell.Immunol.*, 119, 1989, s. 182-192.
64. MURAKAMI, S. et al.: T-cell-derived factor B 151-TRF1/IL-5 activates blastoid cells among unprimed B cells to induce a polyclonal differentiation into immunoglobulin M-secreting cells. *Immunology*, 65, 1988, s. 221-228.
65. NAMEN, A.E. et al.: B cell precursor growth-promoting activity. Purification and characterization of a growth factor active on lymphocyte precursors. *J.Exp.Med.*, 167, 1988, s. 988-1002.
66. NEMUNAITIS, J. et al.: Use of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in autologous marrow transplantation for lymphoid malignancies. *Blood*, 72, 1988, s. 834-836.
67. OGARRA, A.G. et al.: Production of cytokines by mouse B cells: B lymphomas and normal B cells produce interleukin 10. *Int.Immunol.*, 2, 1990, s. 821-825.
68. OHARA, J. - PAUL, W.E.: Receptors for B-cell stimulatory factor-1 expressed on cell of haematopoietic lineage. *Nature*, 325, 1987, s. 537-540.
69. PESCHEL, C. - PAUL, W.E.: Effect of B cell stimulatory factor-1/interleukin 4 on hematopoietic progenitor cells. *Blood*, 70, 1987, s. 254-263.
70. PLATZER, E. et al.: Lymphokines and monokines in the clinic. *Immunol.Today*, 7, 1986, s. 185-187.
71. POTHIER, O.N. et al.: IL-3 inhibits the binding of GM-CSF to AML blasts, but the two cytokines act synergistically in supporting blast proliferation. *Leukemia*, 4, 1990, s. 329-336.
72. RENNICK, D. et al.: Control of hematopoiesis by a bone marrow stromal cell clone: Lipopolysaccharide and interleukin-1 inducible production of colony stimulator factors. *Blood*, 69, 1987, s. 682 až 687.
73. RENNICK, D. et al.: Interleukin-6 interacts with interleukin-4 and other hematopoietic growth factors to selectively enhance the growth to megakaryocytic, erythroid, myeloid, and multipotential progenitor cells. *Blod*, 73, 1989, s. 1828-1835.
74. SPOONER, E. et al.: Self-renewal and differentiation of interleukin-3-dependent multipotent stem cells are modulated by stromal cells and serum factors. *Differentiation*, 31, 1986, s. 111-118.
75. STEBLER, CH. et al.: High-dose recombinant human erythropoietin for treatment of anemia in myelodysplastic syndromes and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: A pilot study. *Exp.Hematol.*, 18, 1990, s. 1204-1208.
76. STEWARD, W.P. et al.: Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rhGM-CSF) given as daily short infusions - a phase I dose-toxicity study. *Br.J.Cancer*, 58, 1988, s. 142-145.
77. STRIETER, R.M. et al.: Endothelial cell gene expression of a neutrophil chemotactic factor by TNF-alpha, LPS, and IL-1 beta. *Science*, 243, 1989, s. 1467-1469.
78. TADMORI, W. et al.: Human recombinant IL-3 stimulates B cell differentiation. *J.Immunol.*, 142, 1989, s. 1950-1955.
79. TAGA, T. et al.: Receptors for B cell stimulatory factor 2. Quantitation, specificity, distribution, and regulation of their repression. *J.Exp.Med.*, 166, 1987, s. 967-981.
80. TAYLOR, K. et al.: RhG-CSF hastens granulocyte recovery on Hodgkins disease after high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplant. *Exp.Hematol.*, 16, 1988, s. 413-419.
81. Te VELDE, A.A. et al.: Interleukin-4 (IL-4) inhibits secretion of IL-1 beta, tumor necrosis factor-alpha and IL-6 by human monocytes. *The Am.Soc.Hematol.*, 1990, s. 1392-1397.
82. UCHIDA, A. et al.: Lysing of fresh human tumor by a cytotoxic factor derived from autologous large granular lymphocytes independently of other known cytokines. *Cancer Immunol.Immunother.*, 31, 1990, s. 60-64.
83. ULICH, R.T. et al.: In vivo hematologic effects of recombinant interleukin-6 on hematopoiesis and circulating numbers of RBCs and WBCs. *Blood*, 73, 1989, s. 108-110.
84. VADHAN-RAJ, S. et al.: Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes. *New Engl.J.Med.*, 317, 1987, s. 1545 až 1552.
85. VADHAN-RAJ, S. et al.: Stimulation of hematopoiesis in patients with bone marrow failure and in patients with malignancy by recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 72, 1988, s. 134-141.
86. VADHAN-RAJ, S. et al.: Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with aplastic anemia. *Exp.Hematol.*, 16, 1988, s. 239-242.
87. VAN SHICK, J. et al.: Purification and NH2-terminal amino acid sequence of a T-cell-derived lymphokine with growth-factor activity for B-cell hybridomas. *Proc. Natl.Acad.Sci. (Wash.)*, 83, 1986, s. 9679-9683.
88. VELLENGA, E. et al.: Divergent effect of interleukin-4 (IL-4) on the granulocyte colony-stimulating factor and IL-3-supported myeloid colony formation from normal and leukemic bone marrow cells. *Blood*, 75, 1990, s. 633-637.
89. VILLEVAL, J.L. et al.: Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor on progenitor cells in patients with advanced malignancies. *Br.J.Haematol.*, 74, 1990, s. 36-44.
90. WALTHER, Z. et al.: Transcriptional regulation of the interferon-beta-2/B cell differentiation factor BSF-2/hepatocyte stimulating factor gene in human fibroblasts by other cytokines. *J.Immunol.*, 140, 1988, s. 974-977.
91. WIESER, M. et al.: Interleukin-4 induces secretion of CSF for granulocytes and CSF for macrophages by peripheral blood monocytes. *Blood*, 73, 1989, s. 1105-1108.

92. WONG, G.G. et al.: Stimulation of murine hematopoietic colony formation by human IL-6. *J.Immunol.*, 140, 1988, s. 3040-3044.
93. YANG, Y. et al.: Interleukin-1 regulation of hematopoietic growth factor production by human stromal fibroblasts. *J.Cell.Phys.*, 134, 1988, s. 291-296.
94. YOSHIMURA, T. et al.: Neutrophil chemotactic factor produced by lipopolysaccharide (LPS)-stimulated human blood mononuclear leukocytes: partial characterisation and separation from interleukin-1 (IL-1). *J.Immunol.*, 139, 1987, s. 788-793.
95. ZSEBO, K.M. et al.: Stem cell factors is encoded at the SL locus of the mouse and is the ligand for the c-kit tyrosine kinase receptor. *Cell*, 63, 1990, s. 213-224.
96. ZSEBO, K.M. et al.: Identification, purification, and biological characterization of hematopoietic stem cell factor from buffalo rat liver-conditioned medium. *Cell*, 63, 1990, s. 195-201.