

**ECOLE NATIONALE SUPERIEURE
DES SCIENCES DE L'INFORMATION
ET DES BIBLIOTHEQUES**

**UNIVERSITE CLAUDE BERNARD
LYON 1**

ENSSIB

UCBL

**REPERTORIATION DES CYTOKINES DE POTENTIALISATION DE L'ERYTHROPOIETINE
TESTEES *IN VIVO* CHEZ LES PRIMATES.
ETUDE DU CADRE D'APPLICATION CLINIQUE;
CAS NECESSITANT L'UTILISATION DE COFACTEUR DE L'ERYTHROPOIETINE.**

Note de synthèse

**Diplôme d'Etudes Supérieures Spécialisées
INFORMATIQUE DOCUMENTAIRE**

sous la Direction de
Mr Mouchiroud
Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire
CNRS UMR 106
Université Claude Bernard , Lyon 1

ED
24

Septembre 1992

**Sophie TOULEMONDE-
TOURNEUR**

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE
DES SCIENCES DE L'INFORMATION
ET DES BIBLIOTHEQUES

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD
LYON 1

ENSSIB

UCBL

REPERTORIATION DES CYTOKINES DE POTENTIALISATION DE L'ERYTHROPOIETINE
TESTEES *IN VIVO* CHEZ LES PRIMATES.
ETUDE DU CADRE D'APPLICATION CLINIQUE;
CAS NECESSITANT L'UTILISATION DE COFACTEUR DE L'ERYTHROPOIETINE.

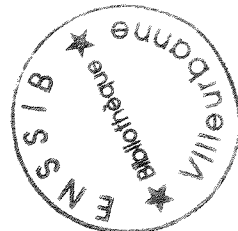
Note de synthèse

Diplôme d'Etudes Supérieures Spécialisées
INFORMATIQUE DOCUMENTAIRE

sous la Direction de
Mr Mouchiroud

Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire
CNRS UMR 106

Université Claude Bernard , Lyon 1



1992

ED

24

Septembre 1992

Sophie TOULEMONDE-
TOURNEUR

SOMMAIRE:

1. INTRODUCTION - PRESENTATION

2. STRATEGIE DE RECHERCHE

2.1. Interrogation de la base PASCAL par le serveur DIALOGUE à l'ENSSIB:

2.2. Interrogation de la base BIOSIS par le serveur QUESTEL à l'URFIST:

2.3. Interrogation des CURRENT CONTENTS sur DISQUETTE:

2.4. Interrogation de la base MEDLINE par le serveur DATA-STAR:
Définitions des descripteurs
Equations de recherche

2.5. Conclusion:

3. ANALYSE

3.1. Introduction

Rappels sur l'hématopoïèse
Régulation de l'érythropoïèse par l'érythropoïétine
Applications thérapeutiques de l'érythropoïétine

3.2. Les activités de type BPA (Burst Promoting Activity)

3.2.1. Existence dans les extraits rénaux d'une nouvelle activité érythropoïétique stimulant la prolifération des BFU-e 'tardives'

3.2.2. Description d'une activité BPA analogue chez le porc

3.3. Etude de l'activité *in vivo* des différentes cytokines de différenciation érythropoïétique, et de leurs possibilités d'application clinique

3.3.1. Revue des différentes possibilités de traitement avec l'érythropoïétine recombinante humaine (rHuEpo)

Myélodysplasies
Anémies
Transfusions

SIDA

Traitement des anémies induites par le TNF (& l'IL1)

**3.3.2. Revue des différentes combinaisons Epo/
molécules à activité BPA utilisables en thérapie**

Interleukine-6 (IL6)

G-CSF & GM-CSF

Activine

3.4. Conclusion

4. REFERENCES

-Publications sélectionnées

5. BIBLIOGRAPHIE GENERALE

ANNEXE

REMERCIEMENTS:

Je tiens à remercier Mr Mouchiroud pour son aide précieuse et le suivi de ce travail très décousu, et, pour son agréable encadrement et sa grande amabilité.

TITRE - SUJET:

Répertoriation des cytokines de potentialisation de l'érythropoïétine testées *in vivo* chez les primates.
Etude du cadre d'application clinique; Cas nécessitant l'utilisation de cofacteur de l'érythropoïétine.

1. INTRODUCTION - PRESENTATION:

Cette note de synthèse a été effectuée dans le cadre de la découverte d'un cofacteur original de potentialisation de l'érythropoïétine (en vue d'un dépôt de brevet), pour Mr Mouchiroud, laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, CNRS UMR 106, Université Claude Bernard, Lyon 1.

- RESUME (ABSTRACT):

L'équipe du Pr Blanchet a découvert une activité MBPA (Mature Burst Promoting Activity), des les extraits rénaux de souris, potentialisant la prolifération de progéniteurs érythroïdes spécifiquement au stade BFU-e tardif.

Dans l'objectif de pouvoir utiliser ce produit en médecine, une recherche bibliographique a été faite sur les cadres d'application clinique (myelodysplasies, anémies, transfusions, SIDA, TNF), en développant les possibilités de combinaison érythropoïétine (Epo)/ molécules à activité BPA (IL6, G-CSF, GM-CSF, Activine) utilisables en thérapie.

Les perspectives thérapeutiques de prescription de l'Epo s'étendent bien au delà du cas des patients souffrant d'anémie liée à une insuffisance rénale, et le MBPA paraît être le meilleur adjuvant potentiel de l'Epo en traitement d'appoint, étant donné sa production rénale régulée physiologiquement et sa grande spécificité d'action sur les jeunes progéniteurs (BFU-e) de la lignée érythroïde.

DESCRIPTEURS : Hématopoïèse, -Erythropoïétine, -Cytokine, -*in vivo*, -Primate, -Thérapie.

KEYWORDS : Hematopoiesis, -Erythropoietin, -Ccytokine, -*in vivo*, -Primate, -Treatment.

2. STRATEGIE DE RECHERCHE:

2.1. Interrogation de la base PASCAL par le serveur DIALOGUE à l'ENSSIB:

PASCAL:

Base de données bibliographique multidisciplinaire développée depuis 1973 par le CNRS. Elle recense ~3000 périodiques, thèses ou ouvrages dans le domaine médical.

Recherche faite dans le cadre des Travaux Pratiques, malheureusement un virus s'étant insinué sur la disquette de téléchargement au moment de la relecture, le résultat a été inexploitable.

Remarque; J'aurai pu réinterroger cette base en utilisant le service vidéotext (code d'accès 36.29.36.01 PASCAL), mais d'autres opportunités se sont présentées et cette étape a été abandonnée.

2.2. Interrogation de la base BIOSIS par le serveur QUESTEL à l'URFIST:

BIOSIS:

Base américaine de données depuis 1969, recensant ~9000 périodiques, congrès, rapports... et brevets, traitant de biologie humaine, animale, ou végétale, également tournée vers la recherche fondamentale.

Recherche effectuée en Février 92.

La stratégie de recherche a été élaborée à partir de l'utilisation du thésaurus; des "concept-codes" ont été envisagés pour restreindre la recherche à un domaine, ou pour obtenir "l'explosion" d'un terme.

L'interrogation a été faite directement sur; -les mots du titre, du résumé et les descripteurs, (exceptés certains mot-clés limités à un champs précis)

Equations de recherche:	?	Masque (troncature de 1 caractère)
	BC=86215	"Biosystematic Code" ou "Super-taxonomy", = Hominidae
	DE	Champ Descripteurs

Question:	Réponses:	Descripteurs:
-----------	-----------	---------------

Q1	2948	Cytokine?/DE
----	------	--------------

Q2	3134268	BC=86215
----	---------	----------

Q3	2020	Erythropoietine/DE
----	------	--------------------

Q4	1645	in (w) vivo
----	------	-------------

Q5	1094	Q2 and Q3
----	------	-----------

Q6	5	Q5 and Q1
----	---	-----------

Certaines étapes (par exemple *in vivo*) n'ont finalement pas été utilisées, vu l'occurrence de la dernière question déjà très sélective. C'est également le cas des "Concept codes"; -CC=22008 soit Blood & hematologic agents, et CC=15004 soit Blood cell studies.

Sur les 5 références obtenues, une seule paraît pertinente sur le traitement des myélodisplasies. Elle sera retrouvée plus tard sur le listing MEDLINE.

Cependant, les deux tirés-à-part (que m'a donnés Mr Mouchiroud) me servant de point de référence ne ressortent pas, ce qui me permet de critiquer le ciblage de la recherche.

Nous avons alors d'autre part recherché si les articles publiés par l'équipe de Mr Mouchiroud sur ce sujet étaient répertoriés dans cette base. Nous n'en n'avons trouvé qu'un, dont nous avons demandé le format complet pour étudier son indexation.

Le coût de consultation de cette base étant assez élevé, nous avons limité en temps l'interrogation (recherche offerte par l'URFIST). Celle-ci a donc été interrompue, bien que nous aillions pu l'élargir en tronquant erythropoie*. Toutefois, elle m'a quand même permis de mieux cibler les descripteurs que je devrais utiliser par la suite.

2.3. Interrogation des CURRENT CONTENTS sur DISQUETTE:

CCOD (Current contents on diskette) _ Life Sciences:

Revue de sommaires, hebdomadaire, publiée par l'institut d'information scientifique américain, repertoriant 1200 des plus importants journaux dans le domaine des sciences de la vie. Accessible sur disquette avec le logiciel d'exploitation correspondant.

Le profil de recherche automatisée sauvegardé a été le suivant:

(* Troncature illimitée)

Question:	Champs:	Descripteurs:
Q1	Basis	Erythropoie*
Q2	Basis	Hematopoie*
Q3	Set-No	1 or 2
Q4	Basis	Interleukin-3 or Interleukin-4 or Interleukin-6 or Interleukin-9 or GM-CSF or G-CSF or M-CSF
Q5	Basis	Colony stimulating factor or EPO or Cytokin* or Growth factor or Activine or Lymphokin*
Q6	Set-No	4 or 5
Q7	Basis	Anemia or Kidney failure
Q8	Basis	Arthritis or Rheumatoid
Q9	Basis	Acquired immunodeficiency syndrome or AIDS
Q10	Set-No	7 or 8 or 9
Q11	Set-No	3 and 6
Q12	Set-No	3 and 10
Q13	Set-No	6 and 10
Q14	Author	Ganser,A* or Adamson,W* or Yu,J
Q15	Author	Kashiwakura,I* or Murakami,M* or Hayase,Y* or Takagi,Y*
Q16	Set-No	11 or 12 or 13
Q17	Set-No	14 or 15

Sur 4 mois le nombre de références sélectionnées est le suivant:

Mars	57
Avril	42(=14+7+16+5)
Mai	61(=12+27+12+10)
Juin	82(=25+19+15+33)

14 au total ont finalement été jugées pertinentes et commandées pour le travail de synthèse.

2.4. Interrogation de la base MEDLINE par le serveur DATA-STAR:

MEDLINE: (MEDical literature analysis & retrieval system onLINE)

Base de données produite par la National Library of Medicine de Bethesda (USA), en ligne depuis 1966, recensant ~3200 périodiques. Elle recouvre tous les domaines de la médecine, pharmacologie, toxicologie, biochimie, microbiologie et psychologie. La mise à jour est mensuelle, et ~70% des notices sont enregistrées avec le résumé des auteurs. Tous les champs sont interrogeables, les descripteurs sont regroupés dans le thésaurus MeSH (Medical Subject Headings) qui fait référence en matière biomédicale. Medline est gérée par différents serveurs, et également disponible sur CD ROM et accessible par télésystème (Minitel).

La stratégie de recherche finale a été affinée peu à peu, avec l'utilisation du MeSH et à partir de deux publications de l'équipe de recherche de Mr Mouchiroud.

Définitions des descripteurs:

-- Définition de la lignée érythroïde:

- hematopoietic-stem-cells# (=5554) Ce terme donnant un ensemble de réponses beaucoup trop important a été éliminé.

Pour limiter les réponses, nous avons utilisé;

- erythroid-progenitor-cells with DE =133 Terme général, restreint aux effets des substances thérapeutiques.

- Burst adj Forming adj Unit\$1 = 301

ou - BFU adj e = 762 Stade précisément intéressant où semble intervenir le nouveau facteur découvert.

Domaine particulier qui a été élargi avec;

- Burst adj Promoting adj Activity = 100

Eclatement

/DE Restriction à un champ; DEscripteur

\$1 Troncature d'un caractère

adj Adjacence

with Restriction à un domaine (subheading); DE = Drug Effects

-- Définition des facteurs érythropoïétiques:

Le but de la recherche étant d'être le plus exhaustif possible au niveau des cytokines connues, nous sommes restés très large.

- Growth-substances# = 44378 Nous avons utilisé un éclatement de terme afin de cibler tous les facteurs de croissances existant sans différenciation.

Plus, en particulier;

- Hematopoietic-cell-growth-factors# = 7568

ou - Erythropoietin\$1 = 2840

-- Définition du modèle d'expérimentation:

- human = 1468577

ou - primates# = 15679

Les premières recherches ayant été peu satisfaisantes, nous avons finalement décidé d'élargir également au modèle expérimental de la souris avec;

- murin\$1 = 22323

-- Définition des applications cliniques:

Les principales applications cliniques ont été regroupées en différents ensembles restreints ou non à des domaines particuliers (subheadings) en fonction du nombre de réponses obtenues.

§α anemia with DT = 1215

kidney-failure-chronic = 8577

diamond adj blackfan = 42

arthritis-rheumatoid = 8680

§β AIDS with DT = 238

Acquired-ImmunoDeficiency-Syndrome with DT = 1502

§γ surgery = 141976

transfusion = 13226

prematurity = 1490

§δ leukemia with DT = 5651

myeloid = 8185

§ε physical-endurance = 1685

Domaines; DT = Drug Therapy
(Subheadings) TH = Therapy

Equations de recherche:

N° Question	Equations	Nbr Réponses
Q1	Lignée érythroïde ou Facteurs érythropoïétiques	43050
Q2	Q1 et Modèle expérimental	30096
Q3	Limitation de Q2 aux 5 dernières années	19925
Q4	Limitation de Q3 aux articles anglais ou français uniquement	18663
Q5	Q4 et Vivo	2049
Q6	Q5 et (chaque groupe de pathologie)	
	$x \alpha (18188) =$	51
	$x \beta (1586) =$	3
	$x \gamma (154657) =$	19
	$x \delta (5657) =$	31
	$x \varepsilon (1685) =$	0

LISTING: CF ANNEXE

Au total, 131 (=51+3+19+31-3 doublons) références ont donc été demandées en télédownload dans le format "Short" (N° de référence interne _ Noms des Auteurs _ Adresse _ Titre _ Source)

Prix de l'interrogation; 33.6 fr suisse, soit ~ 132 Fr.

Finalement, 12 d'entre elles ont été sélectionnées pour être commandées, d'après leur intérêt et pour la rédaction du travail de synthèse.

2.5.Conclusion:

En supplément des 2 articles de base publiés par l'équipe de Mr Mouchiroud, 14 (COD) + 12 (MEDLINE) références sont apparues pertinentes.

Cependant, sur ces 26 articles, choisis pour l'analyse, 2 n'ont pu être obtenus;

- L'un (34) étant non localisé en France,
- L'autre (35) étant trop récent pour être localisé à la bibliothèque universitaire.

3. ANALYSE:

3.1.Introduction

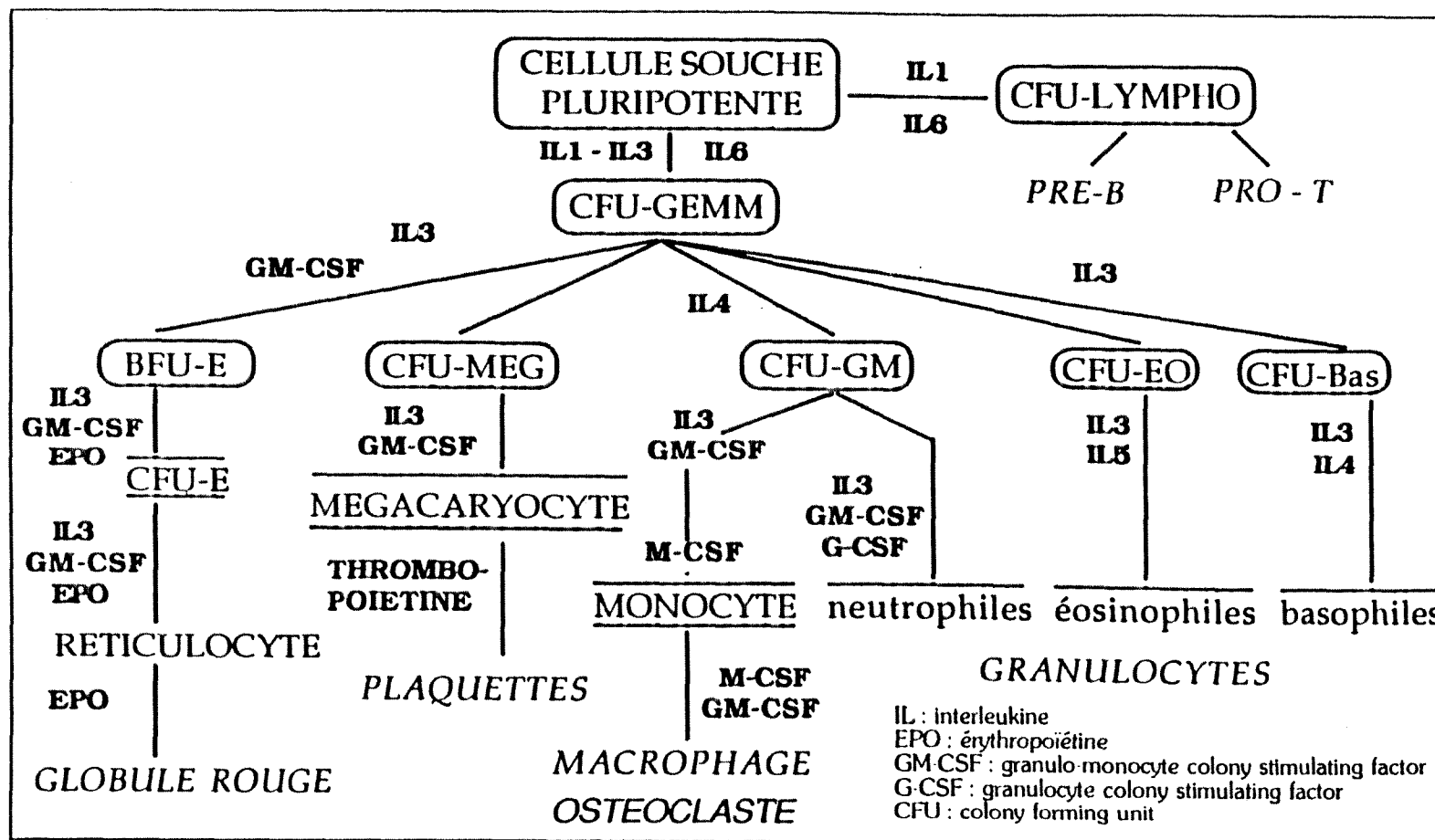
Rappels sur l'hématopoïèse:

Chez l'homme, l'hématopoïèse médullaire assure, journalièrement, le renouvellement de plusieurs dizaines de milliards d'éléments figurés du sang. Ceux-ci comprennent 8 différents types de cellules sanguines, toutes dérivées de mêmes cellules souches hématopoïétiques localisées dans la moelle osseuse. Les cellules médullaires érythropoïétiques se répartissent en 3 compartiments d'importance inégale;

- Les cellules souches pluripotentes, qui sont capables, seules, de reconstituer définitivement et efficacement l'hématopoïèse après transplantation à un individu létalement irradié. Elles assurent la pérennité de toutes les cellules du sang par leur capacité d'autorenouvellement, et engendrent des cellules progénitrices, engagées de manière irréversible dans l'une ou l'autre des lignées sanguines. Certaines cellules souches pluripotentes (Colony Forming Unit- Granulocyte Erythrocyte Macrophage Megakaryocyte (CFU-GEMM), ou CFU-Mix) peuvent, cependant, donner *in vitro* des colonies de cellules multidifférenciées.
- Par opposition, les progéniteurs unipotents qui perdent progressivement leur capacité d'autorenouvellement ne se différencient que selon un nombre réduit de lignages (lignées myéloïde, granulocytaire, monocytaire, megakariocytaire, ou érythrocytaire). Ils peuvent être détectés grâce à leur capacité à engendrer des clones de cellules différenciées, *in vitro*, en milieu semi-solide (méthylcellulose ou agar), et en présence de facteurs de croissance spécifiques stimulants (Colony Stimulating Factors, Interleukines, ou cytokines) (1). Ainsi, pour la lignée érythroblastique, deux types de progéniteurs ont été bien définis:
 - les BFU-e (Burst Forming Unit-erythroblast), plus précoces, donnant naissance, en 7 jours de culture à des colonies multicentriques de plusieurs centaines de petits globules rouges.
 - et, les CFU-e (Colony Forming Unit-erythroblast), population plus mature, donnant en 48 heures de culture, 8 à 64 globules rouges. (2)
- Les précurseurs hématopoïétiques, cellules sanguines mûres, qui sont déjà reconnaissables morphologiquement, et majoritaires dans la moelle, où elles vont maturer avant d'être déversées dans le flux sanguin (Cf Schéma, page suivante).

Cette organisation du système hématopoïétique, associée à l'action concertée de nombreuses cytokines, assure non seulement son homéostasie, mais permet également l'ajustement de la production des cellules sanguines aux besoins parfois très fluctuant de l'organisme (hémorragies, anémies...)

Schéma de l'hématopoïèse chez l'homme



_D'après Hollard D., Revue Française des Laboratoires 1991, n 229 _ (5)

Régulation de l'érythropoïèse par l'érythropoïétine:

L'érythropoïétine (Epo) est la principale hormone responsable de la régulation de l'hématopoïèse. Son existence fût établie dans les années 50 (1950, Reissman- 1957, Jacobson- 1966, Schooley). Puis, sa structure et sa physiologie furent étudiées (1977, Miyake -purification). Il s'agit d'une glycoprotéine circulante de 34 KDaltons et 156 acides aminés, dont la glycosylation est absolument nécessaire pour son activité biologique *in vivo*. Sa 1/2 vie naturelle serait ainsi, d'environ 4 à 5 heures. Chez l'adulte, elle est synthétisée principalement par le rein, avec une variation circadienne de sécrétion, tandis que durant la vie foetale, elle serait surtout produite au niveau du foie. (3)

L'érythropoïétine agit par fixation sur les récepteurs des précurseurs érythropoïétiques, essentiellement les CFU-e dont elle induit la prolifération, la différenciation et la maturation. Le développement des précurseurs plus immatures, c'est à dire des BFU-e, quant à lui, s'avère relativement résistant aux effets de l'érythropoïétine, et nécessite aussi d'autres facteurs de croissance (que l'on désigne pour cette raison molécules à activité BPA pour Burst Promoting Activity), comme l'Interleukine 3 (IL 3) ou le Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating-Factor (GM-CSF). On distingue les BFU-e 'précoces' ne répondant pas encore à l'érythropoïétine contrairement aux 'tardives'. En outre, d'autres cofacteurs érythropoïétiques tels que le fer, l'acide folique, et la vitamine B12 sont aussi nécessaires à une érythropoïèse normale. (4)

La régulation du taux d'érythropoïétine sérique est inversement proportionnelle au niveau d'oxygénation cellulaire du rein, apprécié par les capteurs de la pression partielle en oxygène (PO₂). En cas d'hypoxie (altitude, insuffisance respiratoire...), l'organisme réagit par un accroissement de la sécrétion déterminant une augmentation des hématies et donc de l'oxygène fixé. Inversement, une élévation de la PO₂ (hypertransfusion...) sera suivie d'un ralentissement de la production d'Epo. La relation; niveau d'Epo sérique/ hémoglobine du sang, est actuellement, également bien exploitée en diagnostic clinique (5). Outre le cas des patients anémiques, privés d'érythropoïétine, on a pu observer, par exemple, que les taux d'érythropoïétine sérique tendent à devenir anormalement faibles chez les patients souffrant d'anémie chronique liée aux cancers, au SIDA ou aux polyarthrites rhumatoïdes. En revanche, on rencontre des taux trop élevés dans certains cas de myélodysplasie, d'anémie sévère aplasique, et, curieusement chez les sidéens traités à la zidovudine (4).

Applications thérapeutiques de l'érythropoïétine:

L'obtention stable, par le génie génétique, de nombreux facteurs de croissance, permet aujourd'hui, aux essais thérapeutiques de se multiplier. Ainsi, depuis le clonage du gène de l'érythropoïétine, on produit de l'Epo recombinante humaine (rHuEpo), maintenant prescrite sous plusieurs formes pharmaceutiques. Cette érythropoïétine (rHuEpo), est largement adoptée dans le traitement des anémies liées aux insuffisances rénales, avec des résultats significatifs.

Comme nous le verrons, la prescription d'rHuEpo est aussi étudiée dans les cas d'anémie avec SIDA, cancer, polyarthrite rhumatoïde et prématurité. Mais, elle peut également trouver de potentielles applications cliniques dans d'autres contextes; -chez les malades ne pouvant être transfusés pour

problèmes immunologiques, -chez les patients atteints de sévères anémies dues à une atteinte primaire de la moelle (myelodysplasies, apasies), -chez les témoins de Jéhova, refusant toute transfusion sanguine homologue, -chez les personnes thalassémiques, pour lesquelles il a été montré, que de hautes doses d'rHuEpo augmentent la production d'hémoglobine F foetale (4). C'est, d'autre part, un facteur de production sanguine utilisé pour les autotransfusions pré- et post-opératoire afin de limiter les risques d'histoincompatibilité. (5)

La correction de l'anémie est accompagnée d'un accroissement du nombre des BFU-e et des CFU-e de la moelle, chez les patients anéphriques. On observe alors, en réponse à ce traitement, une diminution ou une élimination de la dépendance aux transfusions sanguines et donc, une diminution des risques d'hypoferritinémie et d'histoincompatibilité. (4)

Excepté quelques problèmes secondaires liés à une reconstitution hématopoïétique imparfaite, l'administration d'rHuEpo apparaît sûre avec un rapport; risques/ bénéfices, satisfaisant. Aucun problème de toxicité significatif n'a été observé (tension, coagulation, immunité, allergie).

Cependant, Sun C.H. & coll. ont comparé l'efficacité d'injections de grandes quantités d'Epo exogène, par rapport à une greffe de reins, dans la correction des anémies de patients anéphriques. Les auteurs remarquent que lorsque l'apport d'Epo est endogène, la restauration de l'érythropoïèse est bien meilleure. Ils en déduisent que la fonction rénale améliorerait donc la réponse hématopoïétique à l'érythropoïétine, sans doute grâce à des mécanismes de potentialisation par des molécules à activité BPA (Burst Promoting Activity) (7). Ceci rejoint les expériences *in vitro* montrant que le développement des progéniteurs médullaires érythroblastiques (BFU-e & CFU-e) serait potentialisé par des interactions avec les cellules stromales, mais aussi, par des cofacteurs rénaux autres que l'érythropoïétine. (2-6)

La découverte des facteurs BPA, dont l'activité est décrite ci-dessus, serait particulièrement intéressante afin d'améliorer les traitements à base d'rHuEpo, extrêmement coûteux et permanents. Le travail de synthèse bibliographique qui m'a été confié, entre dans le cadre des différentes applications cliniques de l'érythropoïétine. Il est, notamment, accés sur les possibilités, citées dans la littérature, de combiner l'Epo avec d'autres cytokines potentialisatrices, dans les traitements des anémies. Vu l'étendue de cette recherche, nous nous sommes limités au cas des primates, et *in vivo*. En effet, l'équipe de recherche du Pr Blanchet, pense être la première à avoir mis en évidence, dans des extraits rénaux murins, une nouvelle activité érythropoïétique stimulant spécifiquement la prolifération des BFU-e 'tardives'. L'exploitation de cette découverte pourrait être son utilisation en clinique conjointement à l'érythropoïétine, tout au moins, envisagée chez les patients anéphriques, (et, si possible, avec dépôt d'un brevet, ce pourquoi, il faut faire preuve de priorité). Ainsi, verrons nous successivement, la description détaillée de ce nouveau facteur produit par le rein. Puis, nous passerons en revue les différents cadres d'application thérapeutique de l'érythropoïétine, et enfin, les études sur son utilisation clinique en association avec d'autres molécules à activité BPA, ayant fait l'objet de publications scientifiques.

3.2. Les activités de type BPA (Burst Promoting Activity)

3.2.1. Existence dans les extraits rénaux d'une nouvelle activité érythropoïétique stimulant la prolifération des BFU-e 'tardives'

Les travaux de Royet J. & coll. ont permis de mettre en évidence, dans des extraits de cellules rénales de souris, une molécule, dénommée MBPA (pour 'Mature' BPA, en anglais), en raison de sa grande spécificité d'action sur une sous-classe de progéniteurs; les BFU-e 'tardives'. De plus, comme l'Epo, le MBPA est la seule autre activité hématopoïétique décrite, également produite par le rein, et dont la synthèse est régulée de façon physiologique, en fonction de l'état érythropoïétique de l'animal. Comme l'érythropoïétine, il est augmenté en cas d'anémie, et diminué lors d'une forte polyglobulie.

Grâce à des tests *in vitro*, et à des essais de neutralisation antigénique, il a été démontré que le MBPA présente des caractéristiques d'activité qui ne sont partagées par aucune des cytokines actuellement connues (IL3, GM-CSF, IL4, HILDA). Ainsi, sa spécificité d'action sur les BFU-e 'tardives', (sans altérer les autres progéniteurs), est tout à fait unique. Cependant, seule la purification biochimique du facteur permettrait de certifier sa véritable originalité.

L'ensemble de ces résultats conduit les auteurs à penser que le MBPA est un facteur original, impliqué dans l'érythropoïèse *in vivo*. En effet, son injection provoque une augmentation transitoire, mais importante de la population des progéniteurs érythropoïétiques spléniques du receveur. (2-6)

Suite à la publication de l'article de Royet J. dans *Blood*, des expériences de purifications biochimiques de cette activité MBPA ont été entreprises. Et, de nouveau, l'efficacité du produit semi-purifié a été redémontrée *in vivo* chez la souris.

Une activité hématopoïétique similaire a, d'autre part, été découverte *in vitro* chez l'homme (dans des lysats de cellules de reins humains). L'équipe du Pr Blanchet cherche actuellement à obtenir un clone de cellules humaines, productrices de cette activité BPA.

3.2.2. Description d'une activité BPA analogue chez le porc

Une activité BPA analogue a récemment été décrite par Kashiwakura I. & coll. Les auteurs ont examiné l'effet d'extraits de rein de porc (Porcine Kidney Extract (PKE)) sur la croissance de progéniteurs érythroïdes en culture. L'addition de PKE aux colonies BFU-e se traduit par une potentialisation de leur activité. Cet effet a été comparé à celui d'autres facteurs de croissance érythroïdes bien connus, tels que; IL3, GM-CSF, et G-CSF. Seule l'IL3 présente une activité BPA potentielle impliquant la croissance des BFU-e dans les mêmes conditions expérimentales, et conduit au maintien des BFU-e en association avec l'érythropoïétine. En revanche, l'addition d'Epo aux cultures traitées au PKE ne permet pas le maintien des BFU-e. Ces résultats suggèrent donc que le

PKE aurait bien une activité promotrice des 'bursts'. Cependant, cette activité BPA serait différente de celle décrite par Royet J. & coll., car le PKE paraît agir sur les BFU-e 'précoces'. (33)

3.3. Etude de l'activité *in vivo* des différentes cytokines de différenciation érythropoïétique, et de leurs possibilités d'application clinique

Les facteurs de croissance et les interleukines en général régulent la prolifération, la différenciation, et l'activation des nombreuses lignées de cellules hématopoïétiques. L'obtention possible de ces facteurs recombinants en grandes quantités, a ouvert la voie aux études *in vivo*, avec la perspective de traitements thérapeutiques dans les désordres hématologiques. Ils sont, généralement, bien tolérés aux doses où il existe une stimulation effective de l'érythropoïèse. Par ailleurs, la très faible durée de vie de ces cytokines lors de leur injection *in vivo* a posé le problème du maintien d'un taux élevé de ces facteurs de croissance dans l'organisme au cours du traitement. Ce problème a souvent été résolu par des injections répétées. (6-10)

L'utilisation de ces cytokines a permis, grâce aux améliorations qu'elle apporte dans la reconstitution hématopoïétique des personnes traitées par chimiothérapie, une intensification en doses et en temps de ce type de traitement. Elle a donc conduit, *in vivo*, à une diminution de la mortalité due aux insuffisances de l'hématopoïèse. (10-11)

D'autre part, les études *in vitro* de ces facteurs de croissance ont montré que leur utilisation combinée apparaît plus efficace, (par un effet de synergie), que leur administration seule. (11)

3.3.1. Revue des différentes possibilités de traitement avec l'érythropoïétine recombinante humaine (rHuEpo)

Le premier cas d'application thérapeutique de l'érythropoïétine *in vivo*, chez l'homme, a été le traitement de patients souffrant d'anémie liée à une insuffisance rénale chronique. Chez ces personnes, très régulièrement dialysées, il a été prouvé que l'utilisation clinique d'rHuEpo permet de réduire l'anémie, on observe alors, une élévation du nombre des progéniteurs érythroïdes (BFU-e & CFU-e) dans la moelle. Un traitement à des doses comprises entre 40 & 120 U/kg 3 fois par semaine, permet d'augmenter significativement le nombre des BFU-e circulantes et des CFU-GEMM après une semaine de thérapie. La proportion d'érythroblastes, l'hématocrite (Ht) et l'hémoglobine sanguine augmentent également. En revanche, les GM-CFU ne sont pas significativement touchés. (12-20)

Cependant, d'autres applications cliniques de l'érythropoïétine ont été envisagées avec plus ou moins de succès, ces analyses sont décrites dans la littérature.

3.3.1.1. Myélodysplasies:

D'après Greenberg & coll., l'utilisation d'Epo en association à d'autres facteurs de croissance permettrait d'obtenir une reversion complète des anémies myélodysplasiques. (16)

Dans ce type de syndrome, dont l'une des principales manifestations est souvent l'anémie, les effets de l'administration d'rHuEpo ont été étudiés au niveau de la stimulation de la lignée érythroïde. Pourtant, même à hautes doses (640 U/kg - 3 fois par semaine), seul un faible taux de réponse, au niveau de l'élévation de la concentration en hémoglobine, a été observé, et, uniquement chez des patients développant en même temps de sévères leucémies. Des investigations plus profondes seraient donc nécessaires pour clarifier si l'rHuEpo n'accroît pas aussi le risque de prolifération des cellules malignes. (13)

Dans une autre étude, l'administration à la fois en intraveineuse (IV) (600-1500 & 3000 U/kg/semaine) et en sous-cutanée (SC) (560 U/kg/semaine) a permis, sans que l'on explique bien pourquoi, d'obtenir un résultat significatif chez certains patients avec une diminution ou une suppression de la dépendance aux transfusions et une élévation du taux d'hémoglobine (Hb) supérieur ou égal à 15 g/l. A l'avenir, des études plus vastes devraient permettre de déterminer plus précisément les critères de réponse à ce traitement. (14)

Par ailleurs, Shepherd & coll. encouragent également ce mode d'administration en sous-cutané (SC), afin d'obtenir de bons résultats dans les soins des myélodysplasies. (15)

3.3.1.2. Anémies:

Des essais cliniques (50 à 150 U/kg/j d'rHEpo en SC 5 fois par semaine) ont été menés afin d'évaluer la capacité de l'rHuEpo à renverser les anémies réfractaires dans les désordres hématologiques. Les résultats ont été mesurés par l'élévation de l'hémoglobine sanguine sans transfusion. (17)

Les patients atteints de syndromes myéloïdes (lymphomes, gammopathies, leucémies), et touchés au niveau des cellules souches hématopoïétiques, sont, cependant, peu sensibles à cette thérapie. Ce traitement permet une diminution de la dépendance aux transfusions. Mais, il n'augmente pas la vie des globules rouges, et peut accélérer le turn-over du fer globulaire. La lignée mégakariocytaire peut également parfois être touchée avec une augmentation du taux de plaquettes sanguines. (17-18-19)

Les données suggèrent que les malades anémiques souffrant de désordres lymphoprolifératifs (exposés à des chimiothérapies) et, présentant des réponses inappropriées à l'érythropoïétine endogène (érythropoïèse faiblement active) peuvent bénéficier de cette thérapie efficace et curative. Enfin, il a été montré, que les non-réponses à l'rHuEpo, fréquentes dans les anémies non associées à des problèmes rénaux, peuvent avoir pour cause une déficience fonctionnelle en fer. (17-19)

3.3.1.3. Transfusions

La pratique courante des transfusions connaît aujourd'hui un récent déclin étant donné les risques d'infections. Les cliniciens disposent alors de différentes stratégies selon les cas cliniques,

notamment, l'administration d'rHuEpo en pré- et post-opératoire pour diminuer l'utilisation des hématies hétérologues. (21)

Chez les Témoins de Jéhova, par exemple, la religion interdit tout type de transfusion, excepté l'autotransfusion. Elle autorise, néanmoins, l'utilisation de composés biologiques. Pour les malades nécessitant une opération, l'utilisation d'rHuEpo pendant 2 à 3 semaines autour de l'intervention est, alors, le seul traitement alternatif, afin de faire monter significativement le taux de globules rouges et leur hématoците. (22)

3.3.1.4. SIDA:

Les mécanismes troublant l'hématopoïèse dans le SIDA sont encore peu clairs. Il apparaît, que si le virus est capable d'atteindre les cellules de la moelle, cela reste relativement rare. La production des facteurs de croissance et d'inhibition est toutefois perturbée (GM-CSF, G-CSF, IL6, TNF γ , TGF β). Des hypothèses concernant la production d'anticorps et des variations du microenvironnement sont également avancées.

L'utilisation de tout facteur de croissance en clinique, doit donc, avant tout, s'accompagner de l'assurance que ces cytokines n'ont pas d'effet positif sur la réplication du virus HIV. En l'occurrence, le métabolisme de certains antiviraux comme l'AZT, paraît activer les effets des cytokines (en particulier, le GM-CSF).

L'utilisation d'rHuEpo a alors été testée dans un essai en double aveugle. (Cette thérapie ne s'est pas avérée toucher la réplication du virus HIV *in vitro*, ni *in vivo*). Il est curieux d'observer que le traitement réduit le besoin en transfusion et élève l'hématoците des sidéens anémiés traités à l'AZT, alors que leur taux en érythropoïétine endogène est déjà élevé.

Une première étude de combinaison de l'érythropoïétine avec le G-CSF a donné des résultats efficaces sur l'activation de l'érythropoïèse. Par ailleurs, il serait intéressant de déterminer si l'interleukine 3 (IL3) agit également en synergie avec l'érythropoïétine plasmatique, puisque l'IL3 est active sur les progéniteurs précoces alors que l'Epo l'est à un stade plus tardif.

La toxicité des produits antiviraux, antibiotiques et des chimiothérapies a, de plus, un effet néfaste sur l'hématopoïèse. Les facteurs de croissance hématopoïétiques permettent de mieux supporter ces soins. Mais, il reste à démontrer que leur utilisation augmente l'espérance de vie, bien qu'ils soient, de toutes les façons, intéressants à terme dans les soins palliatifs. (23)

3.3.1.5. Traitement des anémies induites par le TNF (& l'IL1):

L'anémie des maladies chroniques est parfois associée à des conditions dans lesquelles les macrophages sont activés et produisent des facteurs de nécrose tumoraux (TNF). Les effets du TNF ont été analysés chez des souris Nude inoculées avec des cellules CHO exprimant le gène humain du TNF, par rapport à des souris contrôle auxquelles on a injecté uniquement le vecteur de transfection. Les souris TNF deviennent alors rapidement réticulocytopéniques (2.6+-7% de réticulocytes et Ht=28.4+-1.7% contre 7.3+-4% de réticulocytes et Ht=46+-8% chez les témoins). Cette anémie est

d'autre part souvent accompagnée de faibles taux en fer, et d'une thrombocytopénie. Les niveaux de BFU-e et CFU-e de la moelle et la rate sont profondément diminués. Cependant, le traitement par l'rHuEpo permet quasiment de renverser l'érythropoïèse inhibée chez les souris TNF. (30)

L'injection de TNF exogène chez les souris provoque, de même, une anémie chronique, avec diminution importante des CFU-e spléniques et médullaires. Le TNF peut donc servir de médiateur dans la répression de l'érythropoïèse, ainsi l'injection d'IL1 induit une production de TNF qui, elle-même, affecte le développement des progéniteurs érythropoïétiques. (6)

La prescription d'IL1 α recombinante (0.03 à 10 μ g/kg/j en IV) à des patients avec une sévère anémie aplasique ne provoque en effet, aucun changement significatif dans le sang périphérique des malades. Une réponse des cellules progénitrices a rarement été notée au niveau de la moelle. En revanche, de nombreux effets secondaires tels que fièvre, fatigue, nausées, maux de tête et hypotension apparaissent. (31)

En conclusion, on peut donc noter que l'Epo voit son cadre d'application toucher un contexte clinique beaucoup plus vaste que celui, seul, des anémies, comme cela était le cas à l'origine. D'autres applications thérapeutiques restent, de plus, probablement, encore à exploiter (infections hématologiques parasitaires). A l'inverse, certaines expériences, telles que l'étude de l'influence de différents régimes d'endurance physique sur la concentration en érythropoïétine sérique, ont déjà donné des réponses négatives ou nulles sur les effets de l'Epo. En effet, les résultats indiquent que l'exercice n'a pas d'effet direct sur la teneur en érythropoïétine sérique. Et, l'élévation du nombre de réticulocytes et de l'hémoglobine après exposition à des conditions d'hypoxie ($PiO_2=92$ mmHg), au repos, ou avec un travail sous-maximal (60 mn à 60% des capacités maximales), n'a aucune corrélation, non plus, avec la concentration en érythropoïétine, mais pourrait simplement résulter d'une hémodilution plus importante. (32)

3.3.2. Revue des différentes combinaisons Epo/ molécules à activité BPA utilisables en thérapie

Les activités BPA de certaines cytokines, et l'action de l'érythropoïétine à un stade de différenciation tardif sur les jeunes précurseurs érythroïdes, étant démontrées *in vitro*, comme *in vivo*, il était logique d'étudier *in vivo* la possibilité de traitements combinés, dans lesquels l'Epo est associée à des BPA, qui augmentent la quantité de cellules cibles de l'érythropoïétine.

3.3.2.1. Interleukine-6 (IL6):

Bien que l'interleukine-6 humaine n'ait aucune activité BPA *in vitro*, l'injection pendant 4 jours d'IL6 humaine, induit chez la souris receveuse, une augmentation des BFU-e de la moelle osseuse et de la rate. Une simple injection d'IL6 par voie intraveineuse provoque une réticulocytose rapide mais

transitoire même lorsque les injections sont maintenues pendant plusieurs jours. La même expérience faite avec de l'Epo induit généralement une réticulocytose qui toutefois se maintient aussi longtemps que l'on poursuit les injections. L'IL6 semble donc capable d'agir *in vivo* sur certains progéniteurs unipotents et pourrait agir comme facteur de différenciation. (6)

3.3.2.2. G-CSF & GM-CSF:

L'érythropoïèse humaine *in vivo* est activée significativement par l'administration de G-CSF (100 µg/m² en IV pendant 3 à 5 jours). Toutefois, ce mécanisme n'induit pas d'accroissement de l'érythropoïétine. Ces données mettent donc en évidence un effet direct du G-CSF sur la lignée érythroïde. (24)

En combinaison avec de l'rHuEpo chez des patients anémiés sidéens, le G-CSF recombinant influence positivement la production des BFU-e, des réticulocytes et de l'hémoglobine (avec une augmentation de la capacité de fixation du fer). (25)

Chez les malades atteints d'anémie aplasique, cette association permet un rétablissement des 3 lignées sanguines (érythroïde, granulocytaire, et mégakaryocytaire) sans effets secondaires. Le mécanisme d'amélioration de la thrombopoïèse est peu clair, mais on peut donc concevoir que le G-CSF agit sur la prolifération d'un précurseur commun à toutes les lignées hématopoïétiques. (26)

Au niveau de la moelle, les cellules myéloïdes qui semblent le plus se différencier, en réponse au GM-CSF, sont celles situées proche du trabécule de l'os. Cependant la lignée érythrocytaire n'est pas la plus touchée, à l'inverse de celles granulocytaires neutrophile et eosinophile. (27)

3.3.2.3. Activine:

L'Activine A s'est avérée avoir un effet BPA *in vitro* sur l'érythropoïèse, et jouer aussi un rôle, *in vivo*, chez des souris normales, ou rendues anémiques par saignée. Après injection pendant 7 jours d'Activine A humaine aux souris, les précurseurs érythroïdes (BFU-e & CFU-e) augmentent toujours significativement dans la moelle des receveurs, avec un effet dose-dépendant. Au niveau splénique, en revanche, seul le taux des CFU-e des animaux rendus malades s'élève. Par ailleurs, Makoto S. & coll. ont également observé que les valeurs sériques physiologiques en Activine (déterminées par des essais biologiques), des patients atteints d'insuffisance rénale, sont réduites (<1.2 ng/ml) par rapport à la normale (~8.3+-4.6 ng/ml), et insuffisantes pour stimuler l'érythropoïèse. Des analyses biochimiques plus approfondies, telles que l'HPLC, ont révélé, par la suite, que les sérums des patients anéphriques contenaient, en fait, autant d'Activine que ceux des normaux, et, que la différence observée s'explique par la production au niveau des quantités produites, par le rein, en inhibiteurs spécifiques régulant la potentialité de l'Activine A *in vivo*. Ces données suggèrent donc la possibilité pour l'Activine A de participer à la régulation de l'érythropoïèse, mais l'existence d'une synergie avec l'érythropoïétine n'est pas démontrée. (28-29)

3.4. Conclusion

De par son originalité, la mise en évidence du MBPA par l'équipe de recherche du Pr Blanchet pourrait donc ouvrir des perspectives thérapeutiques importantes dans le traitement des anémies.

En effet, si l'érythropoïétine s'avère suffisante à corriger les désordres hématologiques associés aux anémies, et bien que son utilisation clinique n'ait pas, non plus, d'effets secondaires ennuyeux, ce traitement doit être prescrit à vie, et reste, de ce fait, très coûteux. Il paraîtrait donc intéressant de pouvoir potentialiser la réponse à l'Epo grâce à un cofacteur dont le rôle serait d'amplifier le nombre de cellules répondeuses. Ainsi a-t-on pensé à tester des cytokines, dont on sait qu'elles stimulent *in vitro* l'érythropoïèse: certaines combinaisons, telles qu'avec l'IL6, le G-CSF ou le GM-CSF, sont déjà apparues efficaces, mais aucune n'est entièrement spécifique de l'érythropoïèse. C'est dans ce cadre de traitement d'appoint, que le MBPA semble alors pour l'instant être le meilleur adjuvant de l'Epo, étant donné son origine rénale (régulée physiologiquement), et son importante spécificité d'action, permettant d'amplifier d'autant plus précisément l'impact de l'érythropoïétine sur la lignée érythroïde. Ces données sont, également, en accord avec les observations faites par Sun C.H. & coll., qui suspectaient l'existence d'un cofacteur endogène produit par le rein pour potentialiser l'érythropoïèse. Tous ces résultats permettent à l'équipe du Pr Blanchet de rester optimiste quant aux possibilités, à venir, d'utilisation du MBPA, en médecine.

De plus, l'étendue des perspectives d'applications cliniques de l'érythropoïétine ne se limitent plus seulement aux insuffisances rénales. Mais, celles-ci s'étendent aussi à d'autres traitements complémentaires, concernant, tous les problèmes (immunologiques et autres) dus aux transfusions (ou polytransfusions), les soins associés aux interventions chirurgicales, les sidéens, et/ou les atteintes cancéreuses ou génétiques de la lignée érythroïde. La disponibilité d'un cofacteur spécifique de potentialisation, qui permettrait de parachever les traitements à l'Epo, est donc, sans plus de doute, très recherchée.

4. REFERENCES:

- 1-
Marie J.P. _ Rappel sur l'hématopoïèse. _ RFL 1991, n°229, p 21-4 _
- 2-
Royet J., Mouchiroud G., Arnaud S., Oddos T., Galland S., Blanchet J.P. _ Kidney cell lysates contain an activity that stimulates mature erythroid burst-forming-unit (mBFU-E) proliferation _ Blood 1990, 76, n°10, p 1965-71 _
- 3-
bioMérieux _ Erythropoïétine _ 1991
- 4-
Abels R.I., Rudnick S.A. _ Erythropoietin: Evolving clinical applications. _ Experimental Hematology 1991, 19, p 842-50 _
- 5-
Hollard D. _ Facteurs de croissance hématopoïétique humaine. _ RFL 1991, n°229, p 29-34 _
- 6-
Royet J. _ Mise en évidence dans les extraits rénaux et dans le surnageant de cellules stromales médullaires d'une nouvelle activité érythropoïétique. Caractérisation de cette activité et étude de son rôle physiologique. _ Thèse, UCBL Lyon 1, 1991 (20 XI) _
- 7-
Sun C.H., Ward H.J., Paul W.L., Koyle M.A., Yanagawa N., Lee D.B.N. _ Serumerythropoietin levels after renal transplantation. _ New England Journal of Medicine 1989, 321, n°3, p 151-7 _
- 8-
Oddos T., Nacol-Lizard S., Blanchet J.P. _ Erythropoiesis in murine long-term bone-marrow cell cultures: Dependence on erythropoietin and endogenous production of an erythropoietic stimulating activity. _ journal of cellular physiology 1987, 133, p 72-8 _
- Publications sélectionnées**
- 10-
Moore M.A. _ The clinical use of colony stimulating factors. _ Annu Rev Immunol 1991, 9, p 159-91 _
- 11-
Niskanen E. _ Hematopoietic growth factors in clinical hematology. _ Annals of medicine 1991, 23, n°6, p 615-624 _
- 12-
Ganser A., Bergmann M., Volkens B., Grutzmacher P., Scigalla P., Hoelzer D. _ *In vivo* effects of recombinant human erythropoietin on circulating human hemopoietic progenitor cells. _ Exp Hematol 1989, 17, n°5, p 433-5 _
- 13-
Schouten H.C., Vellenga E., Van-Rhenen D.J., De-Wolf J.T., Coppens P.J., Blijham G.H. _ Recombinant human erythropoietin in patients with myelodysplastic syndromes. _ Leukemia 1991, 5, n°5, p 432-6 _

-14-

Hellstrom E., Birgegard G., Lockner D., Helmers C., Ost A., Wide L. _ Treatment of myelodysplastic syndromes with recombinant human erythropoietin. _ European journal of haematology 1991, 47, n°5, p 355-360 _

-15-

Sherpherd J.D., Currie C.J., Sparling T.G., Krystal G., Eaves A.C. _ Erythropoietin therapy of myelodysplastic syndromes. _ Blood 1992, 79, n°7, p 1891-1892 _

-16-

Greenberg P.L. _ Treatment of myelodysplastic syndromes with hemopoietic growth factors. _ Seminars in oncology 1992, 19, n°1, p 106-114 _

-17-

Cazzola M., Ponchio L., Beguin Y., Rosti V., Bergamashi G., Liberato N.L., Fregoni V., Nalli G., Barosi G., Ascari E. _ Subcutaneous erythropoietin for treatment of refractory anemia in hematologic disorders - Results of a phase I/II clinical trial. _ Blood 1979, 1, p 29-37 _

-18-

Kurzrock R., Talpaz M., Estey E., Obrien S., Estrov Z., Gutterman J.U. _ Erythropoietin treatment in patients with myelodysplastic syndrome and anemia. _ Leukemia 1991, 5, n°11, p 985-990 _

-19-

Verhoef G.E.G., Zachee P., Ferrant A., Demuyneck H., Seileslag D., Vanhove L., Deckers F., Boogaerts M.A. _ Recombinant human erythropoietin for the treatment of anemia in the myelodysplastic syndromes - A clinical and erythrokinetic assessment. _ Annals of hematology 1992, 64, n°1, p 16-21 _

-20-

Hino M., Miyazono K., Urabe A., Takaku F. _ Effects of recombinant human erythropoietin on hematopoietic progenitors of chronic hemodialysis patients *in vitro* and *in vivo*. _ Int J Cell Cloning 1989, 7, n°4, p 257-63 _

-21-

Welch H.G., Meehan K.R., Goodnough L.T. _ Prudent strategies for elective red blood cell transfusion. _ Annals of internal medicine 1992, 116, n°5, p 393-402 _

-22-

Connor J.P., Olsson C.A. _ The use of recombinant human erythropoietin in a jehova's witness requiring major reconstructive surgery. _ Journal of urology 1992, 147, n°1, p 131-132 _

-23-

Groopman J.E. _ The use of growth hematopoietic factors in AIDS. _ Pathologie biologique 1991, 39, N°9, p 874-875 _

-24-

Park K., Im T., Sasaki A., Yamane T., Nakao Y., Yasui Y., Ota K., Ohira H., Inoue T., Furukawa Y., & al _ Positive effect of granulocyte-colony stimulating factor on positive erythropoiesis in humans. _ Osaka City Med J 1991, 37, n°2, p 123-32 _

-25-

Miles S.A., Mitsuyasu R.T., Lee K., Moreno J., Alton K., Egrie J.C., Souza L., Glaspy J.A. _ Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor increases circulating burst forming unit-erythron and red blood cell production in patients with severe human immunodeficiency virus infection. _ Blood 1990, 75, n°11, p 2137-42 _

-26-

Bessho M., Toyoda A., Itoh Y., Sakata T., Kawai N., Jinnai I., Saito M., Hirashima K. _ Trilineage recovery by combination therapy with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) and erythropoietin (rhEpo) in severe aplastic anaemia. _ British journal of haematology 1992, 80, n°3, p 409-411 _

27-

Naeim F., Champlin R., Nimer S. _ Bone marrow changes in patients with refractory aplastic anemia treated by recombinant GM-CSF. _ Hematol Pathol 1990, 4, n°2, p 79-85 _

-28-

Shiozaki M., Skai R., Tabuchi M., Shinohara M., Saito S., Eto Y. _ The existence of activin A/erythroid differentiation factor and its inhibitor in human serum: comparison of normal and chronic renal failure sera. _ Biochem Biophys Res Commun 1992, 183, n°1, p 273-9 _

-29-

Shiozaki M., Sakai R., Tabuchi M., Eto Y., Kosaka M., Shibai H. _ *In vivo* treatment with erythroid differentiation factor (EDF/Activin A) increases erythroid precursors (CFU-e and BFU-e) in mice. _ Biochem Biophys Res Commun 1989, 165, n°3, p 1155-61 _

-30-

Roodman G.D., Johnson R.A., Clifton U. _ Tumor necrosis factor alpha and the anemia of chronic disease: effects of chronic exposure to TNF on erythropoiesis in vivo. _ Adv Exp Med Biol 1989, 271, p 185-96 _

-31-

Wash C.E., Liu J.M., Anderson S.M., Rossio J.L., Nienhuis A.W., Young N.S. _ A trial of recombinant human interleukin-1 in patients with severe refractory aplastic anaemia. _ Br J Haematol 1992, 80, n°1, p 106-10 _

-32-

Schmidt W., Eckardt K.U., Hilgendorf A., Strauch S., Bauer C. _ Effects of maximal and submaximal exercise under normoxic and hypoxic conditions on serum erythropoietin level. _ International journal of sports medicine 1991, 12, n°5, p 457-461 _

-33-

Kashiwakura I., Murakami M., Hayase Y., Takagi Y. _ Enhancement of murine erythropoiesis *in vitro* by a porcine kidney extract. _ Chemical & pharmaceutical bulletin 1991, 39, n°12, p 3290-3294 _

-34-

Carozzi S., Ramelio A., Nasini M.G., Schelotto C., Caviglia P.M., Cantaluppi A., Salit M., Lamperi S. _ Ca⁺⁺ and 1,25(OH)₂D₃ regulate *in vitro* and *in vivo* the response to human recombinant erythropoietin in CAPD patient. _ Adv Perit Dial 1990, 6, p 312-5 _

-35-

Abels R.I., Larholt K.M., Krantz K.D., Bryant E.C. _ Recombinant human erythropoietin (r-HuEPO) for the treatment of the anemia of cancer. _ Blood cell growth factors: Their present and future use in hematology and oncology 1991, p 121-141 _

5. BIBLIOGRAPHIE GENERALE:

- Wood N.C., Dickens E., Symons J.A., Duff G.W. _ In situ hybridization of interleukine-1 in CD14-positive cells in rheumatoid arthritis. _ *Clin Immunol Immunopathol* 1992, 62, (3), p 295-300
- Mackiewicz A., Sobieska M., Karczewska M., Mackiewicz S.H., Wiktorowicz K.E., Pawlowski T. _ Different capabilities of monocytes from patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis to induce glycosylation alterations of acute phase proteins in vitro. _ *Ann Rheum Dis* 1992, 51, (1), p 67-72
- Peichl P., Ceska M., Broell H., Effenberger F., Lindley I.J. _ Human neutrophil activating peptide/interleukin 8 acts as an autoantigen in rheumatoid arthritis. _ *Ann Rheum Dis* 1992, 51, (1), p 19-22
- Abedi-Valugerdi M., Ridderstad A., Strom H., Moller E. _ Relationship between IgG2b-inducing activity in rheumatoid arthritis synovial fluid and other well-known cytokines and inflammatory mediators. _ *Arthritis Rheum* 1991, 34, (11), p 1461-5
- Unemori E.N., Hibbs M.S., Amento E.P. _ Constitutive expression of a 92-kD gelatinase (type V collagenase) by rheumatoid synovial fibroblasts and its induction in normal human fibroblasts by inflammatory cytokines. _ *J Clin Invest* 1991, 88, (5), p 1656-62
- Endo H., Akahoshi T., Takagishi K., Kashiwazaki S., Matsushima K. _ Elevation of interleukine-8 (IL-8) levels in joint fluids of patients with rheumatoid arthritis and the induction by IL-8 of leukocyte infiltration and synovitis in rabbit joints. _ *Lymphokine Cytokine Res* 1991, 10, (4), p 245-52
- Selleri C., Catalano L., De-Rosa G., Fontana R., Notaro R., Rotoli B. _ Danazol: in vitro effects on human hemopoiesis and in vivo activity in hypoplastic and myelodysplastic disorders. _ *Eur J Haematol* 1991, 47, (3), p 197-203
- Devereux D., O-Hehir R.E., McGuire J., Van-Schooten W.C., Lamb J.R. _ HLA-DR4Dw4-restricted T cell recognition of self antigen(s) in the rheumatoid synovial compartment. _ *Int Immunol* 1991, 3, (7), p 635-40
- Fieren M.W., Van-Den-Bemd G.J., Bonta I.L. _ Endotoxin-stimulated peritoneal macrophages obtained from continuous ambulatory peritoneal dialysis patients show an increased capacity to release interleukin-1 beta in vitro during infectious peritonitis. _ *Eur J Clin Invest* 1990, 20, (4), p 453-7
- Hovdenes J., Gaudernack G., Kvien T.V., Hovdenes A.B., Egeland T. _ Mitogen-induced interleukin 2 and gamma interferon production by CD4+ and CD8+ cells of patients with inflammatory arthitides. A comparison between cells from synovial fluid and peritoneal blood. _ *Scand J Immunol* 1989, 30, (5), p 597-603
- Suzuki H., Ayabe T., Kamimura J., Kashiwagi H. _ Anti-IL-1 alpha autoantibodies in patients with rheumatoid diseases and in healthy subjects. _ *Clin Exp Immunol* 1991, 85, (3), p 407-12
- Pertosa G., Marfella C., Tarantino E.A., Di-Cillo M., Manno C., Russo R., Schena F.P. _ Involvement of peritoneal blood monocytes in haemodialysis: in vivo induction of tumour necrosis factor alpha, interleukin 6 and beta 2-microglobulin. _ *Nephrol Dial Transplant* 1991, 6, suppl 2, p 18-23
- Van-Geelen J.A., Nube M.J., Zuurbier P.A. _ Influence of erythropoietin treatment on urea kinetic parameters in hemodialysis patients. _ *Clin Nephrol* 1991, 35, (4), p 165-70
- Rooney M., Symons J.A., Duff G.W. _ interleukin 1 beta in synovial fluid is related to local disease activity in rheumatoid arthritis. _ *Rheumatol Int* 1990, 10, (5), p 217-9

Bucala R., Ritchlin C., Winchester R., Cerami A. _ Constitutive production of inflammatory and mitogenic cytokines by rheumatoid synovial fibroblasts. _ J Exp Med 1991, 173, (3), p 569-74

Carozzi S., Nasini G., Schelotto C., Caviglia P.M., Canepa M., Zanin T., Cantaluppi A., Salit M. _ Peritoneal macrophage beta-2 microglobulin production and bacterial peritonitis in CAPD patients. _ ASAIO Trans 1990, 36, (3), p M369-71

Desmoulins D., Ponteziere C., Agneray J., Ekindjian O.G., Cals M.J. _ Effects of human recombinant IL-1 beta on rheumatoid and non rheumatoid human synovial cell growth. _ Cell Mol Biol 1990, 36, (3), p 309-16

Denzlinger C., Kapp A., Grimberg M., Gerhartz H.H., Wilmanns W. _ Enhanced endogenous leukotriene biosynthesis in patients treated with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. _ Blood 1990, 76, (9), p 1765-70

Zsebo K.M., Williams D.A., Geisser E.N., Broudy V.C., Martin F.H., Atkins H.L., Hsu R.Y., Birkett N.C., Okino K.H., et al. _ Stem cell factor is encoded at the S1 locus of the mouse and is the ligand for the c-kit tyrosine kinase receptor. _ Cell 1990, 63, (1), p 213-24

Brennan F.M., Chantry D., Turner M., Foxwell B., Maini R., Feldmann M. _ Detection of transforming growth factor-beta in rheumatoid arthritis synovial tissue: lack of effect on spontaneous cytokine production in joint cell culture. _ Clin Exp Immunol 1990, 81, (2), p 278-85

Graber S.E., Krantz S.B. _ Erythropoietin: biology and clinical use. _ Hematol Oncol Clin North Am 1989, 3, (3), p 369-400

Habenicht A.J., Salbach P., Janssen-Timmen U., Blattner C., Schettler G. _ Platelet-derived growth factor--a growth factor with an expanding role in health and disease. _ Klin Wochenschr 1990, 68, (2), p 53-9

Vreugdenhil G., Swaak A.J. _ Anaemia in rheumatoid arthritis: pathogenesis, diagnosis and treatment. _ Rheumat Int 1990, 9, (6), p 243-57

Bronchud M.H., Dexter T.M. _ Clinical use of growth factors. _ Br Med Bull 1989, 45, (2), p 590-9

Johnson G.R. _ Erythropoietin. _ Br Med Bull 1989, 45, (2), p 506-14

Beaurain G., Naret C., Marcon L., Grateau G., Druke T., Urena P., Nelson D.L., Bach J.F., Chatenoud L. _ In vivo T cell preactivation in chronic uremic hemodialyzed and non-hemodialysed patients. _ Kidney Int 1989, 36, (4), p 636-44

Sachs G., Siems W., Grune T., Schmidt G., Gerber G., Zoellner K; _ Nucleotide and glutathione status in erythrocytes of children undergoing chronic hemodialysis under erythropoietin treatment. _ Biochem Biochim Acta 1991, 49, (2-3), p S123-4

Alard P., Lantz O., Ramirez A., Perrot J.Y., Chavanel G., Fries D., Charpentier B., Senik A. _ Decreased lymphokine-activated killer cells in kidney transplant recipients. Correlation with a diminished number of CD3-/NKH1- cells. _ Transplantation 1990, 50, (2), p 250-7

Hovenes J., Kvien T.K., Hovdenes A.B. _ IL-6 in synovial fluids, plasma and supernatants from cultured cells of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. _ Scand J Rheumatol 1990, 19, (3), p 177-82

Clibon U., Bonewald L., Caro J., Roodman G.D. _ Erythropoietin fails to reverse the anemia in mice continuously exposed to tumor necrosis factor-alpha in vivo. _ Exp Hematol 1990, 18, (5), p 438-41

Yamamura M., Nishiya K., Ota Z. _ Role of endogenous prostaglandin E2 in interleukin 1 production by peripheral blood monocytes from patients with rheumatoid arthritis. _ *Acta Med Okayama* 1990, 36, (1), p 36-9

Delano B.G., Lundin A.P., Galonsky R., Quinn-Cefaro R.M., Rao T.K., Friedman E.A. _ Dialyser urea and creatinine clearances are not significantly altered in erythropoietin treated maintenance hemodialysis patients. _ *ASAIO Trans* 1990, 36, (1), p 36-9

Stockenhuber F., Kurz R.W., Geissler K., Jahn C., Hinterberger W., Balcker P., Lechner K. _ Recombinant human erythropoietin activates a broad spectrum of progenitor cells. _ *Kidney Int* 1990, 37, (1), p 150-6

Moachon L., Weill B.J., Chereau C., Deslandre C., Renoux M.L., Giroud J.P., Menkes C.J. _ Pulse methylprednisolone therapy reduces monocyte IL-1 production ex vivo (letter). _ *J Rheumatol* 1989, 16, (11), p 1515-6

Abedi-Valugardi M., Ridderstad A., Strom H., Moller E. _ Synovial fluid from rheumatoid arthritis patients induces polyclonal antibody formation in vivo. _ *Scand J Immunol* 1989, 30, (5), p 587-96

Eckardt K.U., Mollmann M., Neumann R., Brunkhorst R., Burger H.U., Lonnerman G., Scholz H., Keusch G., Buchholz B., Frei U., et al. _ Erythropoietin in polycystic kidneys. _ *J Clin Invest* 1989, 84, (4), p 1160-6

Haeflner-Cavaillon N., Cavaillon J.M., Ciancioni C., Bacle F., Delons S., Kazatchkine M.D. _ In vivo induction of interleukin-1 during hemodialysis. _ *Kidney Int* 1989, 35, (5), p 1212-8

Schlesier M., Haas G., Wolff-Vorbeck G., Melchers I., Peter H.H. _ Autoreactive T cells in rheumatic disease (1). Analysis of growth frequencies and autoreactivity of T cells in patients with rheumatoid arthritis and Lyme disease. _ *J Autoimmun* 1989, 2, (1), p 31-49

Oforu-Appiah W.A., Warrington R.J., Wilkins J.A. _ Interleukin 2 responsive responses T cell clones from rheumatoid and normal subjects: proliferative responses to connective tissue elements. _ *Clin Immunol Immunopathol* 1989, 50, (2), p 264-71

Dezza L., Cazzola M., Danova M., Carlo-Stella C., Bergamaschi G., Brugnateili S., Invernizzi R., Mazzini G., Riccardi A., Ascarì E. _ Effects of desferrioxamine on normal and leukemic human hematopoietic cell growth: in vitro and in vivo studies. _ *Leukemia* 1989, 3, (2), p 104-7

Chow F.P., Hamburger A.W. _ In vivo evaluation of the anemia induced by azidothymidine (AZT) in a murine models of AIDS. _ *Eur J Haematol* 1991, 47, (2), p 91-7

Ascensao J.L., Bilgrami S., Zanjani E.D. _ Erythropoietin . Biology and clinical applications. _ *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1991, 13, (4), p 376-87

Clayberger C., Luna-Fineman S., Lee J.E., Pillai A., Campbell M., Levy R., Krensky A.M. _ Interleukin 3 is a growth factor for human follicular B cell lymphoma. _ *J Exp Med* 1992, 175, (2), p 371-6

Oshaka A., Kitagawa S., Ikeda K., Motoyoshi K., Miura Y., Kira S., Saito M. _ Enhanced neutrophil functions in a patient with colony-stimulating activity-producing lung cancer. _ *J Intern Med* 1991, 230, (5), p 459-62

Woodle E.S., Thistlethwaite J.R., Ghobrial I.A., Jolliffe L.K., Stuart F.P., Bluestone J.A. _ OKT3 F(ab')₂ fragments--retention of the immunosuppressive properties of whole antibody with marked reduction in T cell activation and lymphokine release. _ *Transplantation* 1991, 52, (2), p 354-60

Takaue Y., Koyama T., Watanabe T., Kawano Y., Ninomiya T., Kuroda Y., Hiraoka A., Masaoka T. _ In vivo dose-reponse effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on increase in granulocytes after peripheral blood stem cell autotransplantation. _ *Acta Haematol* 1989, 81, (4), p 210-2

Ganser A., Lindermann A., Seipelt G., Ottmann O.G., Eder M., Herrmann F., Frisch J., Schulz G., Mertelsmann R., Hoelzer D. _ Recombinant human interleukin-3 in patients with hematopoietic failure. _ *Recent Results Cancer Res* 1991, 121, p 162-72

Pacifici R., Brown C., Puscheck E., Friedrich E., Slatopolsky E., Maggio D., McCracken R., Aviolo L.V. _ Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. _ *Proc Natl Acad Sci USA* 1991, 88, (12), p 5134-8

Bock S.N., Cameron R.B., Kragel P., Mule J.J., Rosenberg S.A. _ Biological and antitumor effects of recombinant human macrophage colony-stimulating factor in mice. _ *Cancer Res* 1991, 51, (10), p 2649-54

Williams N. _ Megakaryocyte growth factors. _ *Immunol Ser* 1990, 49, p 215-29

Hammond W.P., Csiba E., Canin A., Hockman H., Souza L.M., Layton J.E., Dale D.C. _ Chronic neutropenia. A new canine model induced by human granulocyte colony-stimulating factor. _ *J Clin Invest* 1991, 87, (2), p 704-10

Greenberg P., Negrin R., Nagler A., Vincent M., Donlon T. _ Effect of prolonged treatment of myelodysplastic syndromes with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. _ *Int J Cell Cloning* 1990, 8, suppl1, p 293-300

Graber S.E., Krantz S.B. _ Erythropoietin: Biology and clinical use. _ *Hematol Oncol Clin North Am* 1989, 3, (3), p 369-400

Johnson G.R. _ Erythropoietin. _ *Br Med Bull* 1989, 45, (2), p 506-514

Ganser A., Lindemann A., Seipelt G., Ottmann O.G., Herrmann F., Eder M., Frisch J., Schulz G., Mertelsmann R., Hoelzer D. _ Effects of recombinant human interleukin-3 in patients with normal hematopoiesis and in patients with bone marrow failure. _ *Blood* 1990, 76, (4), p 666-76

Sawatzki G., Rich I.N. _ Lactoferrin stimulates colony stimulating factor production in vitro and in vivo. _ *Blood Cells* 1989, 15, (2), p 371-85

De-Alarcon P.A. _ Megakaryocyte colony-stimulating factor (Mk-CSF): Its physiologic significance. _ *Blood Cells* 1989, 15, (1), p 173-85

Ganser A., Volkens B., Greher J., Ottmann O.G., Walther F., Becher R., Bergmann L., Schulz G., Hoelzer D. _ Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes--a phase I/II trial. _ *Blood* 1989, 73, (1), p 31-7

Wormann B., Hiddemann W., Frisch J., Zuhlsdorf M., Rottman R., Boeckmann A., Reuter C., Freire E.A., Innig G., Schulz G., et al. _ In vitro and in vivo effects of rh GM-CSF in acute myeloid leukemia (AML). _ *Behring Inst Mitt* 1991, (90) p 28-38

Preiser H.D., Raza A. _ Assessment of cell-cycle effects of cytokines in vivo (Letter). _ *J Clin Oncol* 1992, 10, (4), p 673-4

Millar B.C., Bell J.L., Treleaven J., Montes A., Joffe J.K., Powles R.L., McElwain T.J. _ Colony-stimulating activity in the serum of patients with hemopoietic malignancies after intensive chemotherapy/radiotherapy: Its augmentation by GM-CSF in vivo and interleukin 4 in vitro. _ *Exp Hematol* 1992, 20, (2), p 209-15

Shiozaki M., Sakai R., Tabuchi M., Shinohara M., Kosaka M., Saito S., Eto Y. _ The existence of activin A/erythroid differentiation factor and its inhibitor in human serum: comparison of normal and chronic renal failure sera. _ *Biochem Biophys Res Commun* 1992, 183, (1), p 273-9

Raza A., Yousuf N., Abbas A., Umerani A., Medhi A., Bokhari S.A., Seikh Y., Qadir K., Freeman J., Masterson M., et al. _ High expression of transforming growth factor-beta long cell cycle times and a unique clustering of S-phase cells in patients with acute promyelocytic leukemia. _ *Blood* 1992, 79, (4), p 1037-48

Aglietta M., De-Felice L., Stacchini A., Petti M.C., Bianchi A.C., Aloe-Spiriti M.A., Sanavio F., Apra F., Piacibello W., Stern A.C., et al. _ In vivo effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on the kinetics of human acute myeloid leukemia cells. _ *Leukemia* 1991, 5, (11), p 979-84

Maraninchi D., Blaise D., Viens P., Brandely M., Olive D., Lopez M., Sainty D., Marit G., Stoppa A.M., Reiffers J., et al. _ High -dose recombinant interleukin-2 and acute myeloid leukemias in relapse. _ *Blood* 1991, 78, (9), p 2182-7

Hebert M.E., Greenberg M.L., Chaffee S., Gravatt L., Hershfield M.S., Elion G.B., Kurtzberg J. _ Pharmacologic purging of malignant T cells from human bone marrow using 9-beta-D-arabinofuranosylguanine. _ *Transplantation* 1991, 52, (4), p 634-40

Charak B.S., Agah R., Gray D., Mazumder A. _ Interaction of various cytokines with interleukin 2 in the generation of killer cells from human bone marrow: application in purging of leukemia. _ *Leuk Res* 1991, 15, (9), p 801-10

Yamasaki Y., Izumi Y., Sawada H., Fujita K. _ Probable in vivo induction of differentiation by recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF) in acute promyelocytic leukemia (APL). _ *Br J Haematol* 1991, 78, (4), p 579-80

Suzuki T., Morio T., Tohda S., Nagata K., Yamashita Y., Imai Y., Aoki N., Hirashima K., Nara N. _ Effects of interleukin-6 and granulocyte colony-stimulating factor on the proliferation of leukemic blast progenitors from acute myeloblastic leukemia patients. _ *Jpn J Cancer Res* 1990, 81, (10), p 979-86

Kitahara M., Kishimoto S., Hirano T., Kishimoto T., Okada M. _ The in vivo anti-tumor effect of human recombinant interleukin-6. _ *Jpn J Cancer Res* 1990, 81, (10), p 1032-8

Heslop H.E., Gottlieb D.J., Bianchi A.C., Meager A., Prentice H.G., Mehta A.B., Hoffbrand A.V., Brenner M.K. _ In vivo induction of gamma interferon and tumor necrosis factor by interleukin-2 infusion following intensive chemotherapy or autologous marrow transplantation. _ *Blood* 1989, 74, (4), p 1374-80

Lotzova E., Savary C.A., Schachner J.R., Huh J.O., McCredie K. _ Generation of cytotoxic NK cells in periferal blood and bone marrow of patients with acute myelogenous leukemia after continuous infusion with recombinant interleukin-2. _ *Am J Hematol* 1991, 37, (2), p 88-99

Yin M.Y., Gao X.Z., Wang Z.Q., Preisler H.D. _ Studies of the proliferation and differentiation of immature myeloid cells in vitro: 4: Preculture proto-oncogene expression and the behaviour of myeloid leukemia cells in vitro. _ *Cell Biochem Funct* 1991, 9, (1), p 39-47

Wang Y.F., Curtis J.E., Lipton M., Minkin S., McCulloch E.A. _ Cytosine arabinoside (ara-C) and cis-dichlorodiammineplatinum II (cisplatin) alone and in combination: effects on acute myeloblastic leukemia blast cells in culture and in vivo. _ *Leukemia* 1991, 5, (6), p 522-7

Schulz G., Frisch J., Greifenberg B., Nicolay U., Oster W. _ New therapeutic modalities for the clinical use of rhGM-CSF in patients with malignancies. _ *Am J Clin Oncol* 1991, 14, Suppl 1, p S19-26

Grant S., Pettit G.R., Howe C., McCrady C. _ Effect of the protein kinase C activating agent bryostatin 1 on the clonogenic response of leukemic blast progenitors to recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. _ *Leukemia* 1991, 5, (5), p 392-8

Cannistra S.A., DiCarlo J., Groshek P., Kanakura Y., Berg D., Mayer R.J., Griffin J.D. _ Simultaneous administration of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and cytosine arabinoside for the treatment of relapsed acute myeloid leukemia. _ *Leukemia* 1991, 5, (3), p 230-8

Steis R.G., Smith J.W., Urba W.J., Venzon D.J., Longo D.L., Barney R., Evans L.M., Itri L.M., Ewel C.H. _ Loss of interferon antibodies during prolonged continuous interferon-alpha 2a therapy in hairy cell leukemia. _ *Blood* 1991, 77, (4), p 792-8

Bettelheim P., Valent P., Andreeff M., Tafuri A., Haimi J., Gorischek C., Muhm M., Sillaber C., Haas O., Vieder L., et al. _ Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in combination with standard induction chemotherapy in de novo acute myeloid leukemia. _ *Blood* 1991, 77, (4), p 700-11

Fackler M.J., Strauss L.C. _ Lymphohematopoiesis: role of growth factors in leukemogenesis and therapy _ *Hematol Oncol Clin North Am* 1990, 4, (4), p 849-65

Greenberg P., Negrin R., Nagler A., Vincent M., Donlon t. _ Effects of prolonged treatment of myelodysplastic syndromes with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. _ *Int J Cell Cloning* 1990, 8, Suppl 1, p 293-300, Discussion 300-2

Aglietta M., Bussolino F., Piacibello W., Apra F., Sanavio F., Stacchini A., Monzeglio C., Carnino F., Gavosto F. _ Human GM-CSF in vivo: Identification of the target cells and of their kinetics of response _ *Int J Cell Cloning* 1990, 8, Suppl 1, p 283-90, Discussion 290-2

Rizzoli V., Carlo-Stella C., Mangoni L., Bonati A. _ Hematopoietic growth factors: In vitro and in vivo studies in bone marrow transplantation. _ *Int J Cell Cloning* 1990, 8, Suppl 1, p 270-7, Discussion 277-8

Sachs L. _ The proteins that control haemopoiesis and leukaemia. _ *Ciba Found Symp* 1990, 148, p 5-19, Discussion 19-24

Clutterbuck R., Newman A., Powles R., Kwong Y., Millar J., Shepherd V., Smith C. _ Failure to immortalise human AML cells using human recombinant GM-CSF in vitro and in vivo. _ *Bone Marrow Transplant* 1989, 4, Suppl 4, p 40-1

Tamura M., Hattori K., Ono M., Hata S., Hayata I., Asano S., Bessho M., Hirashima K. _ Effects of recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rG-CSF) on murine myeloid leukemia: Stimulation of proliferation of leukemic cells in vitro and inhibition of development of leukemia in vivo. _ *Leukemia* 1989, 3, (12), p 853-8

Gattringer C., Thaler J., Drach J., Micksche M., Huber H. _ GM-CSF treatment in aplasia after cytotoxic therapy. _ *Onkologie* 1989, 12, (1), p 16-8

Liu C.M., Suzuki Y., Chen L.P., Okayasu T., Calkins C.E., Wheelock E.F. _ Maintenance and cure of the L5178Y murine tumor-dormant state by interleukin 2: In vivo and in vitro effects. _ *Cancer Res* 1990, 50, (5), p 1361-7

Dezza L., Cazzola M., Danova M., Carlo-Stella C., Bergamaschi G., Brugnattelli S., Invernizzi R., Mazzini G., Riccardi A., Ascari E. _ Effects of desferrioxamine on normal and leukemic human hematopoietic cell growth: In vitro and in vivo studies. _ *Leukemia* 1989, 3, (2), p 104-7

ANNEXE
Listing MEDLINE
(du 27.05.92)

all

DATABASE	DOCS	SEARCH TERMS
MEDL	385	ERYTHROID-PROGENITOR-CELLS
MEDL	12203	GROWTH-SUBSTANCES=
MEDL	2843	ERYTHROPOIETINS1
MEDL	307	BURST ADJ FORMING ADJ UNITS1
MEDL	770	BFU ADJ E
MEDL	100	BURST ADJ PROMOTING ADJ ACTIVITY
MEDL	42656	1 OR 2 OR 3
MEDL	902	5 OR 6 OR 7
MEDL	43050	8 OR 9
MEDL	1487512	HUMAN
MEDL	15867	PRIMATES=
MEDL	22618	MURINS1
MEDL	1511419	11 OR 12 OR 13
MEDL	30096	10 AND 14
MEDL	12738	ANEMIA
MEDL	3577	KIDNEY-FAILURE-CHRONIC
MEDL	32939	LEUKEMIA
MEDL	3185	MYELOID
MEDL	141976	SURGERY
MEDL	26239	ACQUIRED-IMMUNODEFICIENCY-SYNDROME
MEDL	24242	AIDS
MEDL	42	DIAMOND ADJ BLACKFAN
MEDL	13226	TRANSFUSION
MEDL	235178	16 OR 17 OR 18 OR 20 OR 21 OR 22 OR 23 OR 24 OR 25
MEDL	6039	15 AND 26
MEDL	4137	..LIMIT 27 YR>88
MEDL	3875	28 NOT XF
MEDL	63457	VIVO
MEDL	147657	VITRO
MEDL	442	29 AND 30
MEDL	928	29 AND 31
MEDL	439	..LIMIT 32 LG=EX.FR
MEDL	7561	1 OR 25 OR 3
MEDL	8001	36 OR 9
MEDL	6738	37 AND 14
MEDL	19925	..LIMIT 15 YR>88
MEDL	18663	..LIMIT 39 LG=EX.FR
MEDL	2049	40 AND 30
MEDL	1215	ANEMIA WITH DT
MEDL	1685	PHYSICAL-ENDURANCE
MEDL	1490	PREMATURITY
MEDL	5651	LEUKEMIA WITH DT
MEDL	18	SURGERY WITH (CH OR DT)
MEDL	1	TRANSFUSION WITH DT
MEDL	238	AIDS WITH DT
MEDL	1502	ACQUIRED-IMMUNODEFICIENCY-SYNDROME WITH DT
MEDL	8690	ARTHRITIS-RHEUMATOID
MEDL	18	41 AND 42
MEDL	16	41 AND 47
MEDL	9	41 AND 21
MEDL	1	41 AND 52
MEDL	19198	12 OR 17 OR 21 OR 71
MEDL	71	41 AND 57
MEDL	12886	47 OR 20
MEDL	187	41 AND 59
MEDL	31002	57 OR 59
MEDL	183	41 AND 61
MEDL	1586	59 OR 51
MEDL		41 AND 62
MEDL	154657	21 OR 25 OR 16
MEDL	144	41 AND 65
MEDL	716	58 AND 60
MEDL	536	..LIMIT 68 YR>88

1 MEDL 321 ..LIMIT 70 LG=EV.FR
2 MEDL 122 71 AND 61
3 MEDL 132 71 AND 59
4 MEDL 19 71 AND 65
5 MEDL 0 45 AND 41
6 MEDL 0 45 AND 71
7 MEDL 564 MYELOID WITH DT
8 MEDL 5657 47 OR 77
9 MEDL 31 41 AND 78

OF DISPLAY

- SEARCH MODE - ENTER SEARCH TERMS

. 80_:





9590210