

TIPTA YENİLİKLER

GM-CSF'nin Klinik Kullanımı ve Viral Hepatitlerdeki Yeri

GM-CSF THERAPY IN THE CLINICAL EXPERIENCE AND THE ROLE IN VIRAL HEPATITIS THERAPY

Dr.Bünyamin DİKİCİ*, Dr.Mehmet BOŞNAK*, Dr.Kenan HASPOLAT**

* Yrd.Doç., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD,

** Prof., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Dİ YARBAKIR

Özet

Granülosit makrofaj koloni stimulan faktörün 1984 yılında ayrıştırılmasından sonra birçok alanda klinik kullanım olanağı bulunmuştur. En bilinen endikasyonu antineoplastik kemoterapötiklerin kullanımı sırasında ortaya çıkan pansitopenilerdir. Farmakokinetiğinin tam olarak anlaşılması ile özellikle kronik B ve C hepatiti başta olmak üzere yaygın olmayan kullanım alanları literatür ışığında irdelemek yeni tedavi yaklaşımlarının gelişmesine katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: GM-CSF, Kronik hepatit, Hepatit B aşısı

T Klin Pediatri 2001, 10:163-168

Summary

When GM-CSF had been purified in 1984, a wide field of clinical study have been found on this substance. Now the most familiar indication in the clinical usage in pancytopenia occurred during antineoplastic chemotherapy in malignancies. As the pharmacokinetics of GM-CSF has been understood entirely, many new clinical fields of its usage have been found, especially in chronic B or C hepatitis. This new usage fields of GM-CSF have been studied through literature.

Key Words: GM-CSF, Chronic hepatitis, Hepatitis B vaccine

T Klin J Pediatr 2001, 10:163-168

1984 yılında Gasson tarafından pürifiye edilen granülosit-makrofaj-koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), aktive T ve B lenfositler, endotel, mast hücreleri, fibroblastlar, makrofajlar, mezotel ve osteoblastlarca salınır. G-CSF'nin tersine GM-CSF seviyesi kanda tespit edilemez. Rekombinant GM-CSF memeli hücrelerinden, mantar ve E.coli'den elde edilmektedir. 14-35 kd ağırlığındadır. Çin Hamster Over (CHO) hücrelerinden ve mantardan elde edilenler nonglikozedir. Rekombinant GM-CSF hematopoezin ara basamaklarının regülatörüdür. Granülosit ve monosit oluşturan ünitelerin (CFU-GM) yanı sıra myeloid, eritroid ve megakaryositik koloni oluşturan ünite (CFU-GEMM) artış yapar. Makrofaj ve nötrofillerin tümörosidal, antikor bağımlı hücre sel sitototok-

sisite, süperoksit yapımı, fagositik aktivitesini artırır. Preklinik ve klinik çalışmalarda nötrofil, çomak, eozinofil, monosit ve retikülosit sayısında artış yaptığı gösterilmiştir.

Farmakolojisi: İV veya sc kullanılan GM-CSF başlangıçta dolaşımdaki nötrofil, monosit ve eozinofillerde, lökositlerin akciğerlerde sekestrasyo-nuna bağlı olduğu düşünülen ve birkaç saat içinde düzelen ani ve geçici bir düşme yapar. Devam eden günlerde immatür granülositlerin görülmesiyle belirgin sola kayma ve progresif lökositoz görülür. Devamlı verildiğinde bifazik cevap oluşur. İlk yükseliş 5.güne kadar devam eder, bunu diğer geçici bir düşüş takip eder. Daha sonra tekrar yükseliş görülür ve bu GM-CSF alınmasa da uzun süre devam eder. Bu cevap paterninin nedeni başlangıçta kemik iliğindeki depoların boşalması ve sonra yeni yapımdır. İkinci yükselişin nedeni dolaşımdaki nötrofillerin yarı ömrünün artması olabilir. İlacın kesilmesiyle beyaz küre sayısı 3-5 günde normale döner. GM-CSF'nin önerilen dozu 3-5 mg/kg/ gündür. Çeşitli çalışmalarda 2.5-12.5 mg/kg/gün arasında kul-

Geliş Tarihi: 13.01.2000

Yazışma Adresi: Dr.Bünyamin DİKİCİ
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD,
Dİ YARBAKIR

lanılmıştır. Tek veya iki dozda sc ve-rilir. Cilt altı kullanılması İV'ye göre daha iyi etki eder (1-3).

İmmünolojik etkisi: GM-CSF'nin immün cevap üzerinde değişik etkileri vardır. GM-CSF, makrofaj yüzeyinde class II major histokompatibilite kompleks antijen ekspresyonunu indükler. Dendritik hücre maturasyon ve migrasyonunu artırır. Enjeksiyon yerinde lokalize inflamasyona neden olarak yabancı antijenlere karşı antikor titresini artırır.

GM-CSF'nin genel kullanım alanlarını literatür ışığında inceleyecek olursak;

a-) Kanserlerde kullanımı: GM-CSF'nin kanser immünoterapisindeki yeri in vitro ve klinik olarak araştırılmıştır. Nötrofil sayılarını, tümöre karşı antikor bağımlı sellüler sitotoksiteyi, makrofajların sayı ve antitümör aktivitelerini artırmaktadır. Aktive olan monositler ve makrofajlar yoluyla tümörosidal sitokinlerin (TNF, IL-1, IL-6) salınışını sağlar.

Kanserde sitotoksik kemoterapi ve radyoterapi, kemik iliğini baskılamak suretiyle dolaşımdaki kan hücrelerinin sayısını azaltır. GM-CSF sitotoksik tedavinin myelotoksik etkilerini düzeltir. Bu amaçla konvansiyonel kemoterapi uygulanan hastalara kemoterapi öncesi kısa süreli GM-CSF uygulanmasıyla tedavilerinin 1. ve 14. günlerindeki nötrofil ve trombosit sayıları ile kümülatif hematolojik baskı oluşmasına ait bir belirti gözlenmemiş, ciddi nötropeni ve enfeksiyon oluşmamış, hastalarda kemoterapi dozunun azaltılmasına gerek kalmamıştır. Kemoterapi gününde myeloid kütle ve siklusa girmeyen progenitör hücrelerin artırılmasıyla kemik iliği sitotoksik ajanların etkisinden korunabilmektedir.

Germ hücresi kanserli, non hodgkin lenfoma ve küçük hücreli akciğer kanserli hastaların randomize kontrollü çalışmaları, RhGM-CSF'in (s.c.5-10mg/kg/gün) myelosüpresyonu iyileştirdiğini ve agresif sitotoksik kemoterapiye bağlı enfeksiyöz komplikasyonların sıklığını azalttığını göstermiştir. İV antibiyotiklerle birlikte verildiğinde rhGM-CSF'nin kanser kemoterapisini takiben nötropenili ve sepsisli varsayılan hastalarda, nötrofillerin düzelmesinde plaseboya göre iki kat daha fazla başarı elde edilmiştir.

b-) Aplastik anemi ve MDS' de kullanımı: Aplastik anemide hemopoietik growth faktörlerin eksikliği tespit edilememiştir. Hatta GM-CSF'nin serum düzeyleri artmıştır. Ancak antibiyotiklere cevap vermeyen nötropenik sistemik enfeksiyonlu vakalarda kullanılabilir (4).

Myelodisplastik sendromda hemopoez inhibisyonuna dair bir bulgu olmamasına rağmen disfonksiyonel klon söz konusudur. Ancak GM-CSF ile rezidüel normal ilik stimüle edilmekte; anormal klonların proliferasyonu fonksiyon kazanabilmektedir. MDS'de GM-CSF, düşük doz sitarabin ile kombine edilmeye daha iyi sonuç vermektedir (5,6).

c-) Allojenik transplantasyonda kullanımı: Yüksek doz kemoterapi cevap oranını artırmada, relapsları önlemede önemli bir araçtır. Yoğun kemoterapinin doz sınırlayıcı toksisitesini yenmek ve hemopoetik sistemin yeniden oluşumunu sağlamak üzere kemik iliği transplantasyonu kullanılır ancak erken posttransplantasyon periyodunda hastalar derin nötropeniktir ve hayatı tehdit eden enfeksiyonlar görülür.

GM-CSF, graft gecikmesi veya yetersizliği hususunda sürvi avantajı sağlamaktadır. GM-CSF hem myelopoezi hem de son hücre fonksiyonunu uyarır. Hastalarda enfeksiyon, ateşli gün sayısı, antibiyotik kullanma ve hastanede yatma süresinde azalma sağlar.

d-) AIDS' de kullanımı: GM-CSF'nin kemik iliğindeki primitif myeloid progenitör hücreleri ve matür nötrofil monosit-makrofajları stimüle etmesi HİV enfeksiyonuna ve tedavisinde oluşacak bazı defektleri düzeltmede yararlı bulunmuştur. Özellikle myelosüpresif ajanların yol açtığı nötropenin önlenmesinde ve tedavisinde faydalıdır(7-9).

Antiviral, antimikrobial ve kemoterapötik ajanların kemik iliği toksisitelerine karşı savunma hücrelerinin fonksiyon ve sayılarını artırmak ve özellikle hücre içi protozoer enfeksiyonlara karşı koymak amacıyla AIDS'li hastalara GM-CSF kullanılmaktadır. Bu hastalarda lenfosit, monosit ve nötrofil sayı azlığı veya fonksiyon bozukluğu, enfeksiyonlara yatkınlığı arttırır. Lökopeni hem antiviral tedaviyi hem de kemoterapiyi kısıtlar. HIV virüsü zarf antijenini(P24) karşı oluşan an-

tikoların CFU-GM oluşumunu ve hematopoezi engellediği düşünülmektedir. Bunu ortadan kaldırabilmek amacıyla GM-CSF kullanılmaktadır. GM-CSF, Azidothymidin (AZT) antiviral etkisinde değişikliğe neden olmaz hatta HIV ile enfekte hücrelerin AZT uptake ve fosforilasyonunu artırır. CD4/CD8 oranlarında değişikliğe neden olmaz. Yapılan bir çalışmada GM-CSF 0.5-8 mg/kg/gün dozunda ve-rildiğinde AIDS'li hastalarda nötrofil, monosit ve eozinofillerde doza bağlı artış gözlenmiş ve lökosit fonksiyonları düzelmiştir. AIDS olgularında gelişen orofarengeal kandidiasisde de güvenle kullanılmıştır (10,11).

e-) Kanser kemoterapisinin neden olduğu oral mukozitlerde kullanımı: Mukozitis ağzın ülser durumudur. Genellikle baş boyuna olan radyasyon tedavisi, 5-fluorouracil gibi bazı kemoterapötik rejimler buna neden olur. Ağız çalkantısında GM-CSF'nin kullanılması ağız ve solunum sistemindeki müköz membranlarda bulunan monosit ve makrofajlar ile Candida albicans'a karşı sitotoksik aktiviteyi artırmaktadır. belirgin düzeltici etkide bulunmaktadır (12-15). Ağız yıkama suyunu 0.5 mikrog/ml dozunda hazırlayıp günde 3 kez gargara yapılması ile başarılı sonuçlar alınmıştır(16)

GM-CSF'nin ağır mantar enfeksiyonu olan kanser hastalarında Amphotericin B'ye yardımcı olarak yarar sağladığı da gösterilmiştir.

f-) Periferik kan stem cell (PBSC) mobilizasyonu ve transplantasyonunda kullanımı: PBSC, yüksek doz kemoterapiyi takiben hemopoetik iyi-leşme için tek kaynaktır. GM-CSF ile hücrelerin mobilizasyonu, periferik kan hücre progenitörlerinin etkili bir şekilde toplanmasını sağlar. Bu hücreler yüksek doz kemoterapiyi takiben hemopoetik fonksiyonun hızlı bir şekilde kalıcı olarak yerleşmesini sağlar.

g-) Leishmaniasis' de kullanımı: GM-CSF ve IFN-gamanın leishmania ve T.cruzi'ye karşı intramakrofaj öldürücü etkisi bildirilmiştir. GM-CSF tek başına veya IFN-gamma ile kombine edilmeye Leishmania Donovaninin intrasellüler öldürülmesi aktive edilmektedir (17,18).

h-)Yara iyileşmesine etkisi: GM-CSF iyileşmeyi hızlandırdığı umulan pleiotropik etkilere sahiptir. Bunlar monosit yapım ve salınımının stimülasyonu, makrofajların akti-

vasyonu; diğer monositler, fibroblastlar, endotelial hücreler ve ke-ratinositler için growth faktörler dahil olmak üzere çeşitli sitokinlerin etkileridir.

Lokal olarak kullanılan GM-CSF'nin bu alandaki etki mekanizması şu şekildedir:

- Yara kontraksiyonunu hızlandırmaktadır. Bunu bakterileri elimine ederek ve kontraktil sellüler elemanların o bölgede birikimini sağlar.

- Neovaskülarizasyonunu indükler.

- Keratinosit proliferasyon/diferansiyasyonunu artırır.

ı-) Aşı adjuvanı olarak kullanımı: GM-CSF'nin immün cevap üzerinde Langerhans hücreleri ve dendritik hücrelerin maturasyon, migrasyon ve immünstimülatör fonksiyonlarını artırır. Antijen sunan hücreler üzerinde B7 ve MHC class II moleküllerinin ekspresyonunu artırmakta ve antijen sunumunu kolaylaştırmaktadır (19,20).

Genetik immünizasyon, HBV enfeksiyonunu tedavi etmede veya önlemede faydalı bir stratejidir. Sitokin ve HBVDNA co-immünizasyonu, orta (middle) hepatit B virüs yüzey antijenine karşı hücrel ve humoral immün cevabı artırır. IL-2 ve GM-CSF sitokinleri bu genetik immünizasyonu artırır. Bu artırma büyük(large) hepatit B virüs yüzey antijenine karşı olmamaktadır (21).

Hayvan ve insan çalışmaları GM-CSF uygulamasının yabancı antijenlere karşı antikor yapımını artırdığını göstermiştir. Maymunlarda IL-3 +GM-CSF uygulaması ile tek IL-3 uygulamasına göre 8-30 kat daha fazla pik antikor titresi sağladığını göstermiştir (22). Rekombinant hGM-CSF in vitro olarak makrofaj ve dendritik hücrelerce antijen sunumunu ve eksperimental hayvanlarda injekte edilen antijenlere karşı antikor cevabını artırır.

Tarr, 108 sağlıklı volanteri ele alıyor. Rekombinant hepatit B aşısı enjeksiyonunu takiben 81 vakaya rhGM-CSF, 27 vakaya plasebo veriyor. 28 gün içinde koruyucu antiHBs titresi (anti-HBs 10 IU) GM-CSF alan 81 vakadan 11'inde gözlenirken plasebo alanlarda ise gözlenmedi. Enjeksiyon iyi tolere edildi. Rekombinant hepatit B aşılması yapılan aynı yere tek doz olarak im. veya sc. 20-40 mg rhGM-CSF uygulanması antikor cevabını artırmaktadır(23).

Hemodiyaliz vakaları sıklıkla hepatit B aşısına cevap vermemektedir. Daha önce en az üç defa 40 mg hepatit aşısına cevap vermeyen 15 hemodiyalizli hastaya hepatit B aşısı yapılmadan 24 saat önce tek doz 0.5, 5 veya 10 mg GM-CSF ve-riliyor. 15 vakadan yedisinde HbsAb(35-7240 IU) gelişti. 4 vakadan ikisine hepatit aşısı ve iki kat doz GM-CSF uygulamayla düşük HbsAb titresini(15 ve 60 IU) sağlandı. GM-CSF dozunun yüksekliğine göre hafif-orta yan etki gelişmiştir(24).

j-)Hepatoloji' de kullanımı:

Kronik hepatit B' de etki mekanizması: Kronik hepatit B'li hastalarda GM-CSF tedavisi esnasında sitokin yapımındaki değişikliklerin araştırıldığı bir çalışmada; altı haftalık tedaviyle tedavi öncesi, tedavi esnasında ve tedavi sonrası spontan ve mitogen indüklenmiş olarak tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interleukin-1 beta (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6), interferon alfa ve gamma, serum soluble CD4, soluble CD8, soluble IL-2 resptör (sIL-2R) ve β 2-mikroglobulin serum düzeyleri belirgin olarak artmıştır. Spontan IL-1 β yapımı, sIL-2R ve β 2-mikroglobulin düzeyleri; 2',5'-oligoadenylate sentetaz aktivitesiyle pozitif korelasyon gösterirken, spontan IL-1 β yapımı HBV DNA düzeyleriyle negatif korelasyon gösteriyor. Bu durum hastaların kültürü yapılan mononükleer hücrelerindeki 2',5'-oligoadenylate sentetaz aktivitesinde artışa eşlik etmekte, bu durumda rekombinant hGM-CSF uygulanması immün tabloyu değiştirerek, sitokin yapımını artırarak HBV DNA düzeylerini azaltmaktadır (25).

Literatür eşliğinde klinik uygulamalar incelenecek olursa; Van Thei, IFN tedavisine cevap vermeyen veya lökopeni nedeniyle tedavi edilemeyen 8 hepatit B'li hastaya IFN+GM-CSF uygulamış, beş hastada cevap almıştı. Bu durum, kombinasyonun tek başına IFN'ye göre daha etkili bir viral klirens sağladığını göstermekteydi (26).

Kounouras, daha önce lökopeni gelişmiş kronik hepatit B'li 12 hastaya IFN+GM-CSF kombinasyonu uygulamış, HBVDNA düzeyinde belirgin düşme, transaminazlarda ve histolojik aktivite indeksinde belirgin düzelme olmuş, lökositlerde 2.7-5 kat haftalık artış gözlenmişti. Ayrıca bütün monosit-makrofaj parametrelerinde (migrasyon ve

fago-sitoz indeksleri) ve periferik kan lenfosit parametrelerinde (IL-2R ve HLA-DR ekspresyonu) belirgin artış görülmekteydi (27).

Martin, 8 kronik hepatit B'li hastaya üç ayrı doz uyguladı. 3, 1 ve 0.5 mg/kg. üç doz eşit düzeyde etki gösterdi, ancak 3 mg/kg doz tolere edilemedi. Doza bağlı olarak beyaz küre sayısında artış olmasına rağmen ilacın kesilmesiyle bu artış eski haline geriledi. Tedaviyle 8 hastadan 4'ünde HBVDNA ve HbeAg negatifleşirken, iki hastada serokonversiyon oluştu. Bu dört hastada karaciğer histolojik aktivitesinde düzelme, iki hastada ALT normalizasyonu oluştu. İn vitro olarak kültürü yapılan mononükleer hücrelerin, hücre lizatında 2',5'-oligoadenylate sentetaz aktivitesi belirgin olarak artış gösterdi (28).

Molloy, HBV'ye bağlı periarteritis nodosali bir vakaya 1yıl boyunca 5 MU günlük uygulama yaptı ancak cevap alamadı. Famciclovir ve GM-CSF ilavesiyle HBV enfeksiyonu hızlı bir şekilde düzeldiğini, anti-HBe ve anti-HBs geliştiğini gözleyordu. Antiviral tedavi esnasında periarteritis nodosaya ait exacerbasyon gelişmemişti (29).

Kronik hepatit C'de GM-CSF kullanımı: GM-CSF'nin in vivo ve in vitro antiviral etkisini sitokinleri artırarak yapar. Tsai, 10 kronik hepatit C'li hastada GM-CSF monoterapisi yaptığı çalışmada doz olarak 125mg/m²/gün (iki hafta) daha haftada üç kez (8 hafta) uyguladı. Altı hastada belirgin viral yük azalmasına rağmen negatifleşme olmazken 8/10 hastada biyokimyasal parametreler düzeldi (30).

Van Thei, daha önce IFN alfa tedavisine cevap vermeyen ileri hastalık veya lökopeni nedeniyle tedavi edilemeyen 16 hepatit C'li hastalara günlük 5 mü IFN ve 500 mg GM-CSF (haftada iki kez) dört ay süre ile kombine olarak verildi. 16 hastadan beşinde düzelme oldu (26).

Schiffman, 71 kronik hepatit C'li hastaları üç gruba ayırmış, bir gruba yalnızca GM-CSF, bir gruba yalnızca IFN-alfa, bir gruba da IFN-alfa+GM-CSF uygulamış gerek tek başına GM-CSF, gerekse kombinasyonda GM-CSF'nin etkin olmadığını bildirmişti (31).

Carreno, 20 nonsiroitik kronik hepatit C'li vakaya interferon alfa ve GM-CSF uyguladı. Bir gruba sadece IFN-alfa 2b (3 MU/gün sc), bir gruba

da IFN-alfa+GM-CSF (IFN-alfa 2b 3 MU/gün sc, GM-CSF haftada iki kez 1 mg/kg) 12 hafta süre ile kullandı. Yalnız IFN alan hastalarda iki hafta içinde lökosit, granulosit ve monosit sayısı düşmüş, tedavi kesilinceye kadar düzelmemişti. GM-CSF ise bu düşmeyi önlemişti. Trombosit sayısı her iki grupta da tedavi süresince belirgin şekilde düşmüştü. Hepatit C virüs RNA konsantrasyonu sadece IFN alan 10 hastadan 8'inde düşmüş, sadece bir vakada kaybolmuş iken IFN-alfa ve GM-CSF alan 10 vakadan 7'sinde düşme olmuş, üçünde kaybolmuştu. ALT bakımından iki grup arasında fark gözlenmemişti. Tedavide GM-CSF kullanımı emniyetli bulunmuş, tedaviye ilave edilmesi virolojik cevabı arttırmış, ancak biyokimyasal cevaba katkıda bulunmamıştı (32).

Sirozda GM-CSF kullanımı: Lökopeni sirozda sık görülen bir durumdur. Kubato, sirozlu hastalarda serum GM-CSF düzeyiyle dolaşımdaki granulosit sayısı arasında bir feedback mekanizması olduğunu göstermiştir. Serum GM-CSF düzeyiyle hemogloblin, trombosit, serum albümin, ALT, total billürubin arasında korelasyon görülmemiştir (33).

Sonuç: GM-CSF'nin nötropeni dışındaki endikasyonlarının büyük çoğunluğu son birkaç yıl içinde şekillenmeye başlamıştır. Mevcut sonuçlar başarılı görünse de üzerinde uzlaşılacak tedavi modellerini gelişmesi için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Arslan Ö, İlhan O. Hemapoyetik büyüme faktörleri. *Doktor* 1994;2(1):50-6.
2. Yalçın Ş, Güllü İ. Hematopoyetik büyüme faktörleri THOD.1996;6(3):156-64.
3. Polat A. Hematopoyetik growth faktörler 'G-CSF ve GM-CSF'. *Ege Pediatri Bülteni* 1996; 3(3): 121-6.
4. Teramura M, Mizoguchi H Special Education: Aplastic Anemia.Oncologist 1996;1(3):187-9.
5. Economopoulos T, Mellou S, Papageorgiou E, Pappa V, Kokkinou V, Stathopoulou E, Pappa M, Raptis S. Treatment of anemia in low risk myelodysplastic syndromes with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus recombinant human erythropoietin. *Leukemia* 1999 Jul;13(7):1009-12.
6. Williams MA, Withington S, Newland AC, Kelsey SM Monocyte anergy in septic shock is associated with a predilection to apoptosis and is reversed by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor ex vivo. *J Infect Dis* 1998 Nov;178(5):1421-33.
7. Coffey MJ, Phare SM, Cinti S, Peters-Golden M, Kazanjian PH Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Upregulates Reduced 5-Lipoxygenase Metabolism in Peripheral Blood Monocytes and Neutrophils in Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Blood* 1999 Dec 1;94(11):3897-905.
8. Wang H, English NJ, Reid CD, Merson JE, Knight SC Role of beta-chemokines in HIV-1 infection of dendritic cells maturing from CD34+ stem cells. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999 Jul 1;21(3):179-88.
9. Ambati BK, Perlman DC, Salomon N Outcomes of granulocyte colony-stimulating factor or granulocyte-macrophage colony-stimulating factor use in neutropenic patients infected with human immunodeficiency virus. *Int J Infect Dis* 1998-99 Winter;3(2):70-5.
10. Vazquez JA, Gupta S, Villanueva A Potential utility of recombinant human GM-CSF as adjunctive treatment of refractory oropharyngeal candidiasis in AIDS patients.
11. Vazquez JA, Gupta S, Villanueva A Potential utility of recombinant human GM-CSF as adjunctive treatment of refractory oropharyngeal candidiasis in AIDS patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998 Nov;17(11):781-3.
12. Kwan-Hwa Chi. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on oral mucositis in head and neck cancer patients after cisplatin, fluorouracil and leucovorin chemotherapy. *J Clin Oncol* 1995; 13(10): 2620-8.
13. Ibrahim EM, al-Mulhim FA. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on chemotherapy-induced oral mucositis in non-neutropenic cancer patients. *Med Oncol* 1997;14(1):47-51.
14. Karthaus M, Rosenthal C, Ganser A. Prophylaxis and treatment of chemo- and radiotherapy-induced oral mucositis - are there new strategies? *Bone Marrow Transplant* 1999 Nov;24(10):1095-108.
15. Kannan V, Bapsy PP, Anantha N, Doval DC, Vaithianathan H, Banumathy G, Reddy KB, Kumaraswamy SV, Shenoy AM. Efficacy and safety of granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) on the frequency and severity of radiation mucositis in patients with head and neck carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997 Mar 15;37(5):1005-10.
16. Bez C, Demarosi F, Sardella A, Lodi G, Bertolli VG, Annaloro C, Rimondini L, Porter SR, Carrassi A. GM-CSF mouthrinses in the treatment of severe oral mucositis: a pilot study *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999 Sep;88(3):311-5.
17. Reed SG. Macrophage activation and inactivation in protozoal infections. van Furth R (ed): *Hemopoietic Growth Factors and Mononuclear Phagocytes*. Basel, Karger 1993: 98-110.
18. Badaro R, Carvalho JS et al. Cytokines in the management of leishmaniasis. van Furth R, ed. *Hemopoietic Growth Factors and Mononuclear Phagocytes*. Basel, Karger 1993:111-22.
19. Hasan MS, Agosti JM, Reynolds KK, Tanzman E, Treanor JJ, Evans TG Granulocyte macrophage colony-stimulating

- factor as an adjuvant for hepatitis B vaccination of healthy adults. *J Infect Dis* 1999 Dec;180(6):2023-6.
20. Carlson T, Struve J. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor given as an adjuvant to persons not responding to hepatitis B vaccine. *Infection* 1997;25(2):129.
21. Geisler M, Schirmbeck R, Reimann J, et al. Cytokine and hepatitis B virus DNA co-immunizations enhance cellular and humoral immune responses to the middle but not to the large hepatitis B virus surface antigen in mice. *Hepatology* 1998;28(1):202-10.
22. Jones T, Stern A, Lin R. Potential role of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as vaccine adjuvant. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13 Suppl 2:S47-53
23. Tarr PE, Lin R, Mueller EA, et al. Evaluation of tolerability and antibody response after recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and a single dose of recombinant hepatitis B vaccine. *Vaccine* 1996 Sep;14(13):1199-204.
24. Hess G, Kreiter F, Kusters W, et al. The effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on hepatitis B vaccination in haemodialysis patients. *J Viral Hepat* 1996 May;3(3):149-53
25. Martin J, Quiroga JA, Bosch O, et al. Changes in cytokine production during therapy with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1994;20(5):1156-61
26. Van Thiel DH, Friedlander L, Kania RJ, et al. A preliminary experience with GM-CSF plus interferon in patients with HBV and HCV resistant to interferon therapy. *J Viral Hepat* 1997;4 Suppl 1:101-6.
27. Kountouras J, Boura P, Tsapas G. In vivo effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interferon combination on monocyte-macrophage and T-lymphocyte functions in chronic hepatitis B leukocytopenic patients. *Hepatogastroenterology* 1998; 45(24): 2295-302.
28. Martin J, Bosch O, Moraleda G, et al. Pilot study of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology* 1993;18(4):775-80.
29. Molloy PJ, Friedlander L, Van Thiel DH, et al. Combined interferon, famciclovir and GM-CSF treatment of HBV infection in an individual with periarteritis nodosa. *Hepatogastroenterology* 1999;46(28):2529-31.
30. Tsai NC, Shimoda N, Wong L, et al. A novel of patients with chronic hepatitis C. *Hawaii Med.* 1999; 58(4): 85-8.
31. Shiffman ML, Hofmann CM, Luketic VA, et al. Use of granulocyte macrophage colony stimulating factor alone or in combination with interferon-alpha-2b for treatment of chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998; 28(3): 382-9.
32. Carreno V, Parra A, Navas S, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as adjuvant therapy for interferon alpha treatment of chronic hepatitis C. *Cytokine* 1996;8:318-22.
33. Kubota A, Okamura S, Omori F, et al. High serum levels of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with liver cirrhosis and granulocytopenia. *Clin Lab Haematol* 1995;17(1):61-3.