

# İmmünoloji

## Granülosit-Makrofaj Koloni Stimülan Faktör (GM-CSF)=Diğer Sitokinlerle Etkileşimi ve Klinik Kullanım Alanları

*Dr. Mustafa YAYLACI\**  
*Dr. Ahmet ÖZTÜRK\**  
*Dr. Orhan TÜRKEN\*\**  
*Prof. Dr. Nejdet ÜSKENT\**

Hematopoetik growth faktörler, myeloid hücre büyümesini stimüle eden koloni-stimülan faktörlerle (CSF) lenfoid hücreleri proliferasyon eden ve fonksiyonlarını etkileyen interleukinler (İL) olmak üzere 2 gruba ayrılabilir. Ancak bu klasifikasyon kesin olmayıp, bir çok İL, myelomonositik ve eritroid hücre büyümesini etkilerken benzer olarak bir çok CSF'de ya direkt olarak veya indirekt yolla lenfopoiesi etkileyebilir.

Myelopoezde rol oynayan CSF'ler multi ve unipotansiyel olmak üzere 2 grupta incelenebilir. 4 çeşit CSF bilinmekte olup, bunlar; granülosit-koloni stimülan faktör (G-CSF), granülosit-makrofaj-koloni stimülan faktör (GM-CSF), makrofaj-koloni stimülan faktör (M-CSF) ve multi-koloni stimülan faktör (multi-CSF) veya IL-3'dür (1).

### GM-CSF VE DİĞER SİTOKİNLERİN ETKİ MEKANİZMALARI

#### Makrofajlarda Sinyal İletimi

Sitokinler, lenfositlerden (lenfokin), monositlerden (monokin), inflamasyon ve immünolojik reaksiyonlara katılan hücrelerin fonksiyonlarını etkileyen diğer hücrelerden (fibroblast, endotel hücresi gibi) salınan polipeptitlerdir. Makrofajların hücre membranında bulunan spesifik reseptörlerle etkileşerek intrasellüler sinyali başlatırlar. Bu reseptörlerin ekstrasellüler, transmembran ve intrasellüler bölümleri olup, intrasellüler bölüm sinyalin başlamasından sorumlu tutulmaktadır. Çeşitli sitokinlerin uyardığı, hücre içi sinyalin oluşmasında rol oynayan moleküler olaylar tam olarak anlaşılamamıştır. Sitokinlerle reseptörlerin etkileşimi sonucu G-proteinler, Na/H değiştirici, protein kinaz-C ve A ile fosfolipaz-A gibi enzimatik olaylar aktive olur. Bunun sonucunda hücre içi kalsiyum inozitol trifosfat düzeyi artar, bu da nükleus üzerine etki ile gen ekspresyonuna neden olur ve sonuçta proliferasyon veya fonksiyonel aktivitede değişiklikler meydana gelir (2).

CSF'lerle reseptör etkileşimi sonucu oluşan moleküler olaylar daha karmaşık olup bu etkileşim sonucu protein kinaz-C ve tirozin-protein kinaz aktif hale gelir. Na/H değiştirici aktive olur, bu da hücre içi pH'ı değiştirerek DNA sentezinin uyarılmasını sağlar (2) (Şekil 1).

#### Hematopoezin Kontrolü

Bütün CSF'ler IL-6 yapımını stimüle eder. IL-6 koloni formasyonunu uyarmaz, ancak makrofaj, granülosit ve lenfositlere farklılaşmayı artırır. Diferensiyasyon olmuş bir hücre kolonisinde CSF ile büyümenin uyarılmasını, IL-6 salınımı takip eder. Bu şekilde growth faktörlerin IL-6 ile hücre farklılaşması üzerine yaptığı etki önemli bir mekanizmayı oluşturur. Spesifik hücre yapımı gerektiğinde uyarılmalı, yeterli hücre yapıldığında ise durmalıdır. Bu da inhibitör ve "inducer" faktörler arasındaki dengeye bağlıdır. Hematopoetik düzenleyici proteinler arasındaki bu etkileşimde bir uçta CSF'ler diğer uçta ise TGF- $\beta$  ve TNF gibi inhibitörler bulunur (Şekil 2).

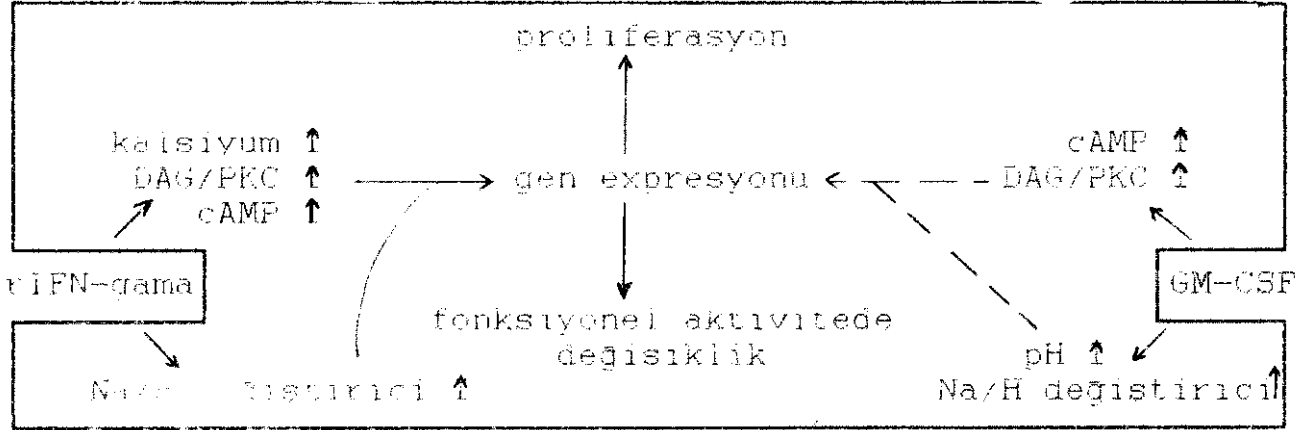
Bu etkileşim ağının en önemli fonksiyonu selektif olarak programlı hücre ölümünü kontrol etmesidir (3,4,6). Bu ağ sadece hematopoetik hücrelerde değil, diğer bazı nonhematopoetik hücrelerde de bulunur. Damar endotel hücre yapımı için IL-6 uyarılır ve yeni endotel oluşumu meydana geldiğinde bu uyarı ortadan kalkar (4,7). Farklılaşma sırasında hematopoetik düzenleyici sitokinler, farklılaşma programında rol oynayan genlerin ayarlanması ve devamında görevli "transkriptör" faktörleri uyarır.

#### İnflamasyondaki Rollerini

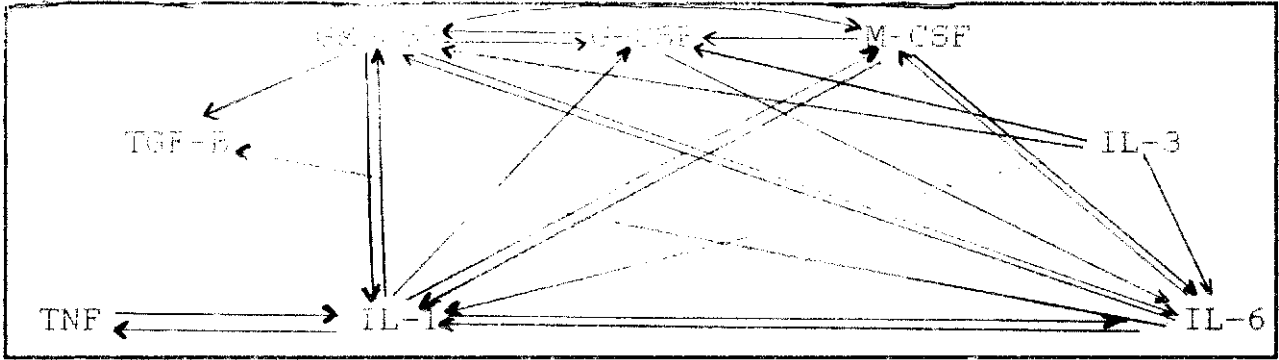
GM-CSF, G-CSF, M-CSF ve henüz tanımlanmamış CSF'ler romatoid artritli hastaların sinoviyal sıvısında saptanmışlardır (8). Felty sendromlu hastalara GM-CSF uygulaması hastalığı aktive etmiştir (10). Muhtemelen GM-CSF ve M-CSF, inflamasyon eklemde monosit ve makrofajlara lokal etki ile doku destrüksiyonunda ve

\* GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Hematoloji-Onkoloji Kliniği

\*\* GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi İç Hastalıkları Kliniği, İSTANBUL



Şekil 1. IFN-gama veya GM-CSF ile reseptörlerin etkileşimi sonucu hücre içi sinyallerinin oluşumu.  
(DAF: Diaçilgliserol, PKC: Proteokinaz C)



Şekil 2. Hemaipoetik düzenleyici sitokinlerin etkileşim ağı.  
(TNF: Tümör nekrozis faktör, TGF-B: Tümör growth faktör-B)

inflamasyonunda rol oynayan mediatörlerin salınımına neden olurlar. GM-CSF ile monosit-makrofajlardan inflamasyonda rol olan IL-1, TNF-a, IL-6 ve prostoglandin-E2 (PG-2) gibi mediatörlerin salgılandığı invitro olarak gösterilmiştir (3,4,6). Diğer bazı çalışmalarda da GM-CSF ve M-CSF'ün insan ve fare mononükleer fagosit hücrelerinden ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü salgılanmasına yol açtığı gösterilmiş olup bu, hücre migrasyonu ve dokunun yeniden şekillenmesinden sorumludur (5,6,8). Hem monosit hem de makrofajlar invitro olarak uygun uyanlarla G-CSF, GM-CSF ve M-CSF oluştururlar. Bu şekilde sinoviyal sıvıdaki CSF'lerin bir kaynağını monosit ve makrofajlar oluşturur.

#### Sinoviyal Membran Üzerine Etkileri

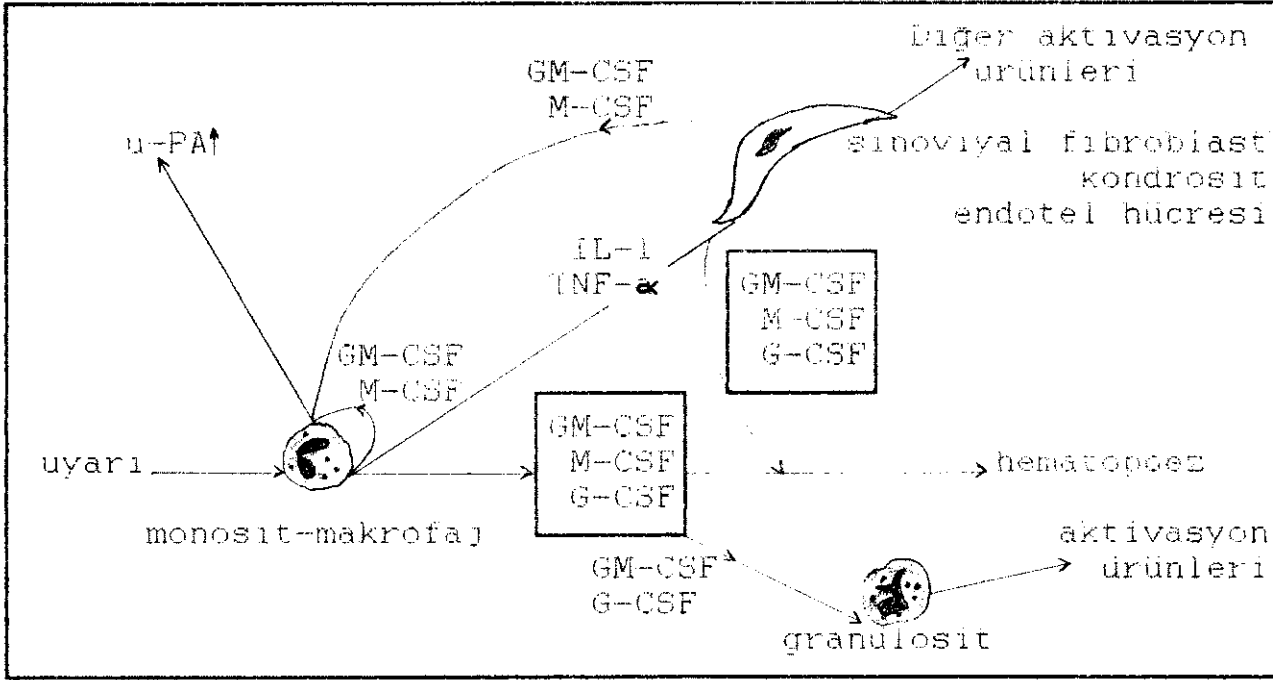
Monositlerden başka sinoviyosit, kondrosit ve endotel hücrelerinin de IL-1, TNF-a gibi uyanlarla G-CSF, GM-CSF ve M-CSF yapabildikleri bulunmuştur (8). CSF'ler sadece hematopoezde değil matür myeloid hücre fonksiyonlarında da etkilidirler. Örneğin GM-CSF, ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (u PA) aktivitesini, class II MCH ekspresyonunu ve hücrenin endotele

adezyonunu artırır. Hayvan ve insan modellerinde GM-CSF ve M-CSF'ün artriti aktive etmeleri sinoviyal inflamasyonda CSF'lerin lokal yapımının önemli rolü olduğunu gösterir. Uyarılmış kondrosit, kapiller hücreler, monosit ve sinoviyositler lokal olarak CSF yaparlar. Böylece GM-CSF ve M-CSF etkisi ile monositlerden u-PA salınır, u-PA doku tahribinde rol oynar ve monositlerin doku içine göç etmesine aracılık eder (Şekil 3).

Ayrıca yine monositlerin salgıladığı IL-1 ve G-CSF ile uyarılan granülositler doku hasarına yol açarken bu olay CSF yapımını uyarır ve kısır döngü oluşumu ile olay kronik hale gelir.

#### Mononükleer Fagositlerin Aktivasyonu Üzerine Etkileri

Mononükleer fagositik seri vücudun defans mekanizmasında önemli rol oynar.  $\gamma$ -IFN, TNF-a ve IL-1 ile makrofajların anti-mikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri artar. GM-CSF sadece progenitor hücrelerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını artırmakla kalmaz, aynı zamanda matür makrofajların fonksiyonlarını da artırır. Antiviral etkisinin araştırılması için influenza virusu ile



Şekil 3. Romatoid eklemlerde olası bir otokrin-parakrin CSF ağı. (u-PA: Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü)

enfekte edilen makrofaalarda GM-CSF'ün IFN-a, p-TNF gibi sitokinlerin salınımını, endositozu ve metabolizmayı artırarak antiviral etki gösterdiği, öte yandan da virüs replikasyonunu uyardığı gözlenmiştir (6). Bu etkilerin olumlu ya da olumsuz net sonucu bilinmemektedir.

#### Aksesuar Hücreler Üzerine Etkileri

GM-CSF, monositlerin aksesuar fonksiyonlarını artırarak lenfosit proliferasyonuna neden olur. Bu etkiyi de IL-1 sentezini ve class II MCH antijenlerinin mRNA sentezini artırarak yapar. Ayrıca IL-8, IL-1 ve IL-6 salınımını uyararak B-lenfosit fonksiyonlarını da etkiler (10).

#### KLİNİK UYGULAMALAR

##### Fungal Enfeksiyonlarda GM-CSF

Fungal enfeksiyonlarda GM-CSF'ün etkinliği tam açıklık kazanmamıştır. Kontrolsüz bir çalışmada invaziv fungal enfeksiyonlu 6 kanser hastasına amfoterisin-B ile beraber yüksek doz GM-CSF (400 mg/m<sup>2</sup>/gün) uygulanmış, ancak fazla bir etkinlik sağlanamamıştır (12). GM-CSF tedavisi ile nötropenik maligniteli hastalarda nötropeninin düzeltilmesi ve fagositozun uyarılması ile ciddi fungal enfeksiyon insidansının azaltılabileceği düşünülse de bu konuda daha fazla sayıda kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

##### Parazitöz ve GM-CSF

İn vivo ve in vitro şartlarda sitokinlerin makrofaaları uyararak patojenik intrasellüler organizmaları inhibe et-

tikleri gösterilmiştir (6). GM-CSF ve  $\gamma$ -IFN ile makrofaalar uyarıldığında parazitler tahrip olmalarına rağmen hastalığı kontrol altına almak zordur. Bunun nedeni enfeksiyon sırasında diğer hücrelerden salınan sitokinlerdir. Örneğin Tripanozoma Cruzi sadece makrofaaların fazla miktarda TGF- $\beta$  yapımını uyararak kalmaz, latent TGF- $\beta$ 'yı da parçalayarak aktive eder. TGF- $\beta$  ve IL-10, bu paraziterin İmmün yıkımından kurtulmalarını ve makrofaa aktivatörlerinin yapımına rağmen sebat etmelerini açıklar (12).

GM-CSF leishmania enfeksiyonunun tedavisinde de ümit vericidir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada 4 visceral leishmaniasisli hastaya tedaviye ek olarak 5 mg/kg/gün dozunda 10 gün süreyle GM-CSF uygulanmış ve tedavinin ilk 5 günü içinde kemotoksik fonksiyonların hızla düzeldiği ancak hastalık aktivitesi ile ilişkili olan TNF-a düzeylerinin değişmediği saptanmıştır (13). Diğer sitokinlerden İFN- $\gamma$  ile beraber uygulandığında leishmania ve candida enfeksiyonlarına karşı etkinliği daha artmaktadır (13).

##### Kemik İliği Yetersizliğinde GM-CSF

GM-CSF, kemik iliği transplantasyonunda graftın tutmaması ve iyi sonuç alınamaması durumunda ilk seçenektir. Transplantasyon sonrası GM-CSF'e yanıt iyi prognoz işareti iken yetersiz yanıt graftın tutmaması konusunda kötü prognoz işaretidir (14).

Aplastik aneminin tedavisinde de GM-CSF denemesi konusunda çalışmalar devam etmektedir. Plasebo kontrollü bir çalışmada İleri derece aplastik anemili 27

hastada GM-CSF günlük 300 mg/m<sup>2</sup> dozunda uygulanmış, plasebo grubu ile karşılaştırıldığında GM-CSF verilen hastalarda ateşli epizodların sayısının önemli oranda azaldığı ve bu hastaların büyük kısmının 3 ay süreyle kan transfüzyonuna ihtiyaç göstermediği tespit edilmiştir (15).

Kemoterapiye bağlı myelosupresyonun düzeltilmesi ve antineoplastik ilaç dozunun artırılması, GM-CSF ile ilgili çalışmaların yoğunlaştığı konulardır. Cisplatin+etoposid uygulanan solid tümörlü 25 çocuk hasta üzerinde yapılan bir çalışmada solid tümörlü 25 çocuk hasta üzerinde yapılan bir çalışmada GM-CSF'In (750 mg/m<sup>2</sup>/gün) nötrofil ve trombosit sayısında doza bağımlı bir artışa yol açtığı, ateş ve nötropeni nedeniyle antibiyotik kullanımını %50 oranında azalttığı saptanmıştır (16).

Nonhodgkin lenfomada, hem kemoterapiye bağlı myelosupresyonun giderilmesinde, hem de iyi seçilmiş vakalarda yüksek doz kemoterapi yapılabilmesi için otolog kemik iliği transplantasyonunun yerine GM-CSF denenmektedir (17).

Yapılan bir çalışmada cytrabine ve mitoxantrone tedavisi verilen refrakter nonhodgkin lenfomalı bir kısım hastaya 250 mg/gün dozunda 6 gün süreyle devamlı infüzyon şeklinde GM-CSF uygulanmış ve nötrofil sayısındaki düzelmenin 13 günden 8 güne indiği, enfeksiyon görülme şansının %53'den %25'e ve mukozit oranının %57'den %17'ye indiği, buna karşın komplet cevabın %14'den %19'a ve ortalama sürvinin 95 günden 130 güne çıktığı gösterilmiştir (18).

### Lösemilerin Kontrolünde GM-CSF ve Diğer Sitokinler

Bazı myeloid lösemik hücre klonlarının IL-6, IL-1a ve IL-16 ile matür bölünmeyen normal hücrelere farklılaştığı gösterilmiştir (1). IL-1a ve IL-1p muhtemelen endojen IL-6 yapımını uyararak bu etkiyi yaparlar. Ayrıca bazı myeloid lösemik hücre klonlarının GM-CSF, G-CSF ve IL-3 ile matür bölünmeyen normal hücrelere farklılaştığı gösterilmiştir (1). Bu hücrelerde anormal kromozom yapısı devam etmekte olup malignitenin supresyonu kromozom değişikliği ile beraber değildir. Bu supresyon, malign fenotipe neden olan genetik değişikliğin "by pass"ı ile sağlanır. Burada lösemik hücre normal hücreye farklılaşırken, hücre çoğalması durdurulur. Ancak çoğu inceleme fazında olan bu çalışmaların kliniğe dönük uygulanması için yeterli kanıtlar yoktur.

Özellikle akut myeloblasts lösemide blastik klonların uyarılabileceği gözlemlerini yok edecek etkin çalışmalar ortaya konmamıştır.

### Myelodisplaziler ve Nötropenilerde GM-CSF

Myelodisplaziler, birçok alt grubu olan ve %10-40 oranında akut lösemiye dönüşebilen hastalıklardır. GM-CSF verilmesiyle bu hastalarda blastların matürasyona uğratılabileceği bazı çalışmalarda gösterilmişse de akut lösemiye dönüşümü hızlandırdığı görünüşü destekleyen bazı çalışmaların da bulunması bu araştırmaların çok kontrollü yapılmasını gerektirmektedir (19).

Kronik, idiyopatik, konjenital, siklik ve otoimmün nötropenilerde GM-CSF tek başına ya da G-CSF ile birlikte kullanılarak etkili olduğu birkaç yayında gösterilmişse de henüz bu çalışmalar deneysel olmaktan ileri gidememiştir (20).

### AİDS VE GM-CSF

HIV enfeksiyonu sırasında ve birlikte görülen neoplazmlarda uygulanan kemoterapi sonucu ortaya çıkan nötropeni, tedavide güçlükler neden olur. Bu nedenle GM-CSF kullanımı ile tedavi desteklenmeye çalışılmaktadır. Yapılan bir çalışmada nötrofil, eozinofil ve monositlerde artış ortaya çıktığı gösterilmişse de CD4/CD8 lenfosit oranının değişmediği görülmüştür (21). Ayrıca HIV enfeksiyonuna karşı kullanılan Zidovudine yol açtığı nötropeniye düzeltilmesi de olumlu etkileri arasında sayılabilir. İn vitro çalışmalarda monositlerde HIV replikasyonunu artırdığı ya da tersini gösteren çalışmalar, bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

### Yara İyileşmesi ve GM-CSF

GM-CSF, ciltaltı uygulandığında endotel hücre migrasyonunu artırıcı ve fibroblast proliferasyonunu uyarıcı etkiye sahiptir (22).

Intradermal GM-CSF uygulanması ile lepramatöz lepralı hastalarda önce keratinosit büyümesi uyarılır, sonra dermiste langerhans hücreleri toplanır ve GM-CSF uygulanan yerden yapılan punch biopsi yerinde yara iyileşmesi hızlanır (23).

GM-CSF ile kronik ülseratif yaraların, termal zedelenmelerin ve insizyonel yaraların iyileşmesi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (24).

## KAYNAKLAR

- Sachs L The Cytokines that control haemopoiesis and their use in the clinic. In: Van Furth R, ed. Hemopoietic growth factors and mononuclear phagocytes. Basel: Karger, 1993:10-20.
- Van Furth R. Production and migration of monocytes and kinetics of macrophages. In: Van Furth, ed. Mononuclear phagocytes. Biology of monocytes and macrophages. Dordrecht: Kluwer, 1992:3-12.
- Toksoz D, Dexter TM, Lord BI, Wright EG, Lajtha LG. The regulation of hemopoiesis in long term bone marrow cultures. Stimulation and inhibition of stem cell proliferation. Blood 1980; 55:931-6.
- Metcalf D. Molecular control of blood cells. Cambridge: Harvard University Press, 1988:1-65.

5. Hart PH, Vitti GF, Burges DR, Whitty GA, Royston K, Hamilton JA. Activation of human monocytes by granulocyte-macrophage colony stimulating factor. Increased urokinase-type plasminogen activator activity. *Blood* 1991; 77:841-8.
6. Smith PD, Lamerson CL, Wahl SM. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor augmentation of leukocyte effector cell function. *J Cell Biochem* 1989; 105:137-41.
7. Motro B, Ilin A, Sachs L, Keshet E. Pattern of Interleukin-6 gene expression *in vivo* suggests a role for this cytokine in angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:3092-6.
8. Hamilton JA. A colony stimulating factor network involving mononuclear phagocytes and other cells. In: Van Furth R, ed. *Hemopoietic growth factors and mononuclear phagocytes*. Basel: Karger, 1993:29-35.
9. Hazenberg PBC, Van Leewen MA, van Rijswijk MH, Stern AL, Vellenga E. Correction of granulocytopenia in Felty's Syndrome by granulocyte-macrophage colony stimulating factor. Simultaneous induction of interleukin-6 and flare up of the Arthritis. *Blood* 1989; 74:2769-70.
10. Smith PD, Lamerson CL, Wong HC, Wahl LM, Wahl SM. GM-CSF stimulates human monocyte accessory cell function. *J Immunol* 1990; 144:3829-34.
11. Roilides E, Pizzo PA. Modulation of host defenses by cytokines. Evolving adjuncts in prevention and treatment of serious infections in immunocompromised hosts. *Clin Infect Dis* 1992; 15:508-42.
12. Analsie E, Wong E, Bodey GP, O'Brien S, Gutterman J, Vadhan S. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus amphotericin B for disseminated mycoses in neutropenic cancer patients (abstract No 73). Program and abstract of the 29th Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy. Washington: American Society for Microbiology 1989.
13. Reiner NE, Ng W, Wilson CB, McMaster WR, Burchett SK. Modulation of *in vitro* monocyte cytokine response to *Leishmania donovani*. Interferon-gamma prevents parasite-induced inhibition of interleukin 1 production and primes monocytes to respond to *Leishmania* by producing both tumor necrosis factor-alpha and interleukin 1. *J Clin Invest* 1990; 85:1914-24.
14. Nemunaitis J, Singer JW, Buckner CD, Dumam D, Epstein C, Hill R, Storb R, Thomas ED, Appelbaum FR. Use of recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor in graft failure after bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 76:245-53.
15. Gordon-Smith EC et al. Randomized placebo controlled study of RH-GM-CSF following ALG in the treatment of aplastic anemia. *Bone Marrow Transplantation* 1991; 11:80.
16. Furman WL et al. Therapeutic effects and pharmacokinetics of recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor in childhood cancer patients receiving myelosuppressive chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology* 1991; 9:1022-8.
17. Ho AD, Haas R, Wulf G, Knauf W, Ebehardt R, Heilig B, Körbling M, Schulz G, Hunstein W. Activation of granulocytes induced by recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor in patients with malignant lymphoma. *Blood* 1990; 75:203-12.
18. Del Valle F, Haas R, Engelhard M et al. Sequential studies on the role of mitoxantrone, high-dose cytarabine and recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor in the treatment of refractory nonhodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 1990; 17:14-9.
19. Estey EH, Kurzrock R, Talpaz M, McCredie KB, O'Brien S et al. Effects of low doses recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes. *British Journal of Haematology* 1991; 77:291-5.
20. Daghistan D, Jimenez JJ, Toledano SR, Ciocco RE, Yunis AA. Congenital neutropenia. A case study. *American Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 1990; 12:210-4.
21. Pluda J, Yarchoan R, Smith PD, McAfee N, Shay LE, Oette D, Maha M, Wahl SM, Myers CE, Brodner S. Subcutaneous rGM-CSF used as a single agent and in an alternating regimen with azidothymidine in leukopenic patients with severe human deficiency virus infection. *Blood* 1990; 76:463-72.
22. Bussolino F, Wang JM, Defilippi P, Turrini F, Sanavio F, Edgel CJS, Aglietta M, Arese P, Mantovani A. Granulocyte and granulocyte-macrophage colony stimulating factors induce human endothelial cells to migrate and proliferate. *Nature* 1989; 337:471-3.
23. Kaplan G, Walsh G, Guido LS, Meyn P, Surkhardt RA, Abalos RM, Barker J, Frindt PA, Fajardo TT, Cohn ZA. Novel responses of human skin to intradermal recombinant granulocyte-macrophage colony stimulating factor. Langerhans cell recruitment. Keratinocyte growth and enhanced wound healing. *J Exp Med* 1992; 175:1717.
24. Rubbia-Brandt L, Sappino AP, Gabbiani G. Locally applied GM-CSF induces the accumulation of alpha-SM actin containing myofibroblasts. *Virchows Archiv B Cell Pathol* 1991; 60:73-82.