

Uso clínico de los factores de crecimiento hematopoyético

JOSE D. TORRES

Los factores de crecimiento hematopoyético (FCH) son producto de la excitante y prometedora industria de la biología molecular y la ingeniería genética. Se hace una revisión de la farmacología del Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos y del Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos-Macrófagos, como también de su uso clínico en neutropenia aguda post-quimioterapia mielotóxica anticancerosa, trasplante de médula ósea, leucemia aguda, síndromes mielodisplásicos, anemia aplásica, síndrome de inmunodeficiencia adquirida y neutropenia crónica.

PALABRAS CLAVE

NEUTROPENIA

TROMBOCITOPENIA

FACTORES DE CRECIMIENTO HEMATOPOYETICO

FACTOR ESTIMULADOR DE COLONIAS DE GRANULOCITOS

FACTOR ESTIMULADOR DE COLONIAS DE GRANULOCITOS-MACROFAGOS

INTRODUCCION

Los factores de crecimiento hematopoyético (FCH) son uno de los productos del avance vertiginoso que en los últimos años han tenido la biología molecular y la ingeniería genética. El potencial de su aplicación es variado y extenso y sin duda ocuparán en un futuro no lejano una posición reconocida en el arsenal terapéutico contemporáneo; habrá que permitir que el tiempo y la investigación clínica depuren más precisamente sus aplicaciones.

En la actualidad se encuentran disponibles para uso clínico el Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos (FEC-G), conocido en forma genérica como Filgrastim y Lenograstim, y el Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos-Macrófagos (FEC-GM) conocido como Sargramostim y Molgramostin. El primero está aprobado en Estados Unidos y Europa para reducir la infección después de quimioterapia mielotóxica antineoplásica en pacientes con tumores no mieloides; el segundo está

DOCTOR JOSE DOMINGO TORRES HERNANDEZ, Profesor Asistente, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

aprobado en Estados Unidos para la reconstitución hematopoyética después del trasplante autólogo de médula ósea en pacientes con neoplasia de origen linfoide.

Otros factores con los que se vienen realizando investigaciones son el Factor Estimulador de Colonias de Macrófagos (FEC-M), las Interleukinas 1,3,5,6,11 y el Factor de Steel o Factor Estimulador de Células Tallo (FECT).

HISTORIA

Los orígenes de los FCH se pueden remontar a 1906: al inducir eritrocitosis en conejos normales después de la infusión de plasma de animales anémicos (1) se sugirió que existían factores circulantes que regulaban la producción de eritrocitos. Sólo 60 años más tarde Bradley y Metcalf (2) desarrollaron los sistemas de cultivo semisólido necesarios para el crecimiento *in vitro* de células progenitoras, conocimiento éste de vital importancia para el entendimiento y comprensión de la hematopoyesis.

El análisis de los eventos que ocurrían en estos cultivos llevó a reconocer que las células progenitoras hematopoyéticas eran intrínsecamente incapaces de división celular (3) y requerían estimulación continua por moléculas reguladoras específicas y apropiadas. Debido a que se utilizó la formación de colonias para detectar y caracterizar estas moléculas, ellas han sido denominadas Factores Estimuladores de Colonias, término que se emplea indistintamente con el de Factores de Crecimiento Hematopoyético (FCH).

Entre 1977 y 1984 se obtuvo la purificación del FEC-GM inicialmente en ratones y luego en seres humanos; el FEC-M se obtuvo en 1980, la Interleukina 3 (IL-3) en 1982, el FEC-G y la eritropoyetina en 1983 (4-6).

Una vez purificados, los factores fueron sometidos a análisis estructural mediante técnicas inmunológicas para conocer su secuencia de aminoácidos; esta información permitió a su vez predecir la secuencia de oligonucleótidos de los respectivos RNAm; con oligonucleótidos sintéticos basados en esta secuencia se pudo identificar el DNA complementario.

Los genes del FEC-GM, la IL-3 y la Interleukina 5 (IL-5) y otros factores de crecimiento se encuentran en el brazo largo del cromosoma 5 mientras que los

del FEC-G están en el cromosoma 17 y los de la eritropoyetina en el 7.

Los primeros ensayos clínicos realizados en seres humanos fueron publicados en 1987 y en 1991 la Administración de Alimentos y Drogas (FDA) de los EE.UU. ya había aprobado el FEC-G para uso clínico.

MECANISMO DE ACCION

En el ser humano la médula ósea es el sitio principal de producción de células sanguíneas, proceso conocido como hematopoyesis el cual tiene varias características:

1. De una célula única, la célula tallo pluripotencial (CTP) se derivan las ocho líneas posibles de desarrollo (Figura N° 1). Los FCH son capaces de dirigir el desarrollo y maduración de las células sanguíneas periféricas a partir de la CTP.

2. Es un proceso estocástico, es decir al azar, modificable por las necesidades y requerimientos de la economía.

3. Las CTP están en fase quiescente o de reposo (Go) pero cuando reciben el influjo de los FCH entran en fase de síntesis (S) expresando en su superficie receptores para algunos tipos de FCH (aquellos que se consideran de acción temprana); a medida que se van diferenciando hacia alguna de las líneas hematopoyéticas van desapareciendo los receptores para algunos FCH pero aparecen para otros (los de acción intermedia o tardía).

En la Figura N° 1 puede observarse que el factor de Steel (FECT) y la IL-3 se consideran de acción temprana, la IL-3 y el FEC-GM de acción intermedia. Son de acción tardía el FEC-G para la línea de los granulocitos, la eritropoyetina para los eritrocitos, el FEC-M para los monocitos, la IL-5 para los eosinófilos y la IL-6 para las plaquetas.

Cuando los monocitos-macrófagos se exponen a productos bacterianos como la endotoxina se activan y liberan el Factor de Necrosis Tumoral (FNT) y la Interleukina 1 (IL-1) que van a estimular el estroma de soporte (fibroblastos y células endoteliales), conocido como el microambiente inductor de la hematopoyesis para que produzcan los FCH; así, las células endoteliales y los fibroblastos liberan FEC-G y FEC-GM y los últimos, además, FEC-M. De otro lado los linfocitos T, que regulan la hematopoyesis desde el punto de vista inmune, producen IL-3 y

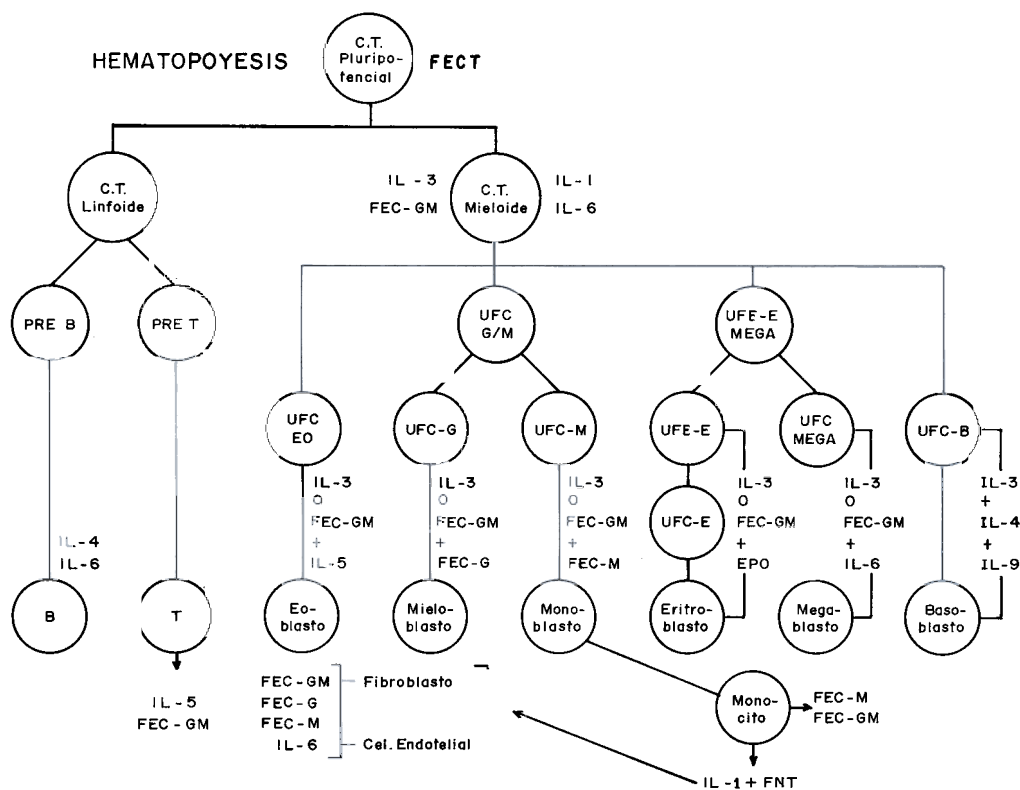


FIGURA N° 1

HEMATOPOYESIS Y FACTORES DE CRECIMIENTO HEMATOPOYETICOS

CT: Célula tallo

FECT: Factor Estimulador de las Células Tallo

IL: Interleukina

UFC: Unidad Formadora de Colonias

UFE: Unidad Formadora de Explosión

EPO: Eritropoyetina

FEC-G: Factor Estimulador de Colonias-Granulocitos

FEC-M: Factor Estimulador de Colonias-Macrófagos

FEC-GM: Factor Estimulador de Colonias-Granulocitos Macrófagos

FNT: Factor de Necrosis Tumoral

FEC-GM. Los monocitos-macrófagos cuando se activan liberan además FEC-G y FEC-M.

EFECTOS DEL FEC-G

La consecuencia de la aplicación del FEC-G es la neutrofilia dependiente de la dosis y que se debe a la confluencia de varios factores: aumento en el número de células precursoras del compartimiento de los mieloblastos; incremento hasta 9.4 veces de la tasa de producción de granulocitos; acortamiento, de 5 a un día, del tiempo de maduración y aparición en la sangre. Sin embargo, la vida media del granulocito circulante permanece normal. A lo anterior se agrega que se estimulan las funciones efectoras del polimorfonuclear neutrófilo (PMN) maduro: se han

demostrado aumento de su metabolismo oxidativo y liberación de ácido araquidónico, incremento de la citotoxicidad dependiente de anticuerpos y fagocitosis aumentada.

EFECTOS DEL FEC-GM

Las consecuencias de la aplicación del FEC-GM son neutrofilia, monocitosis y eosinofilia dependientes de la dosis. *In vitro* hay estímulo de la línea plaquetaria y de los glóbulos rojos pero para inducir reticulocitosis y trombocitosis se requiere el efecto sinérgico de FCH específicos de cada una de las líneas. El FEC-GM también estimula las funciones efectoras de las células terminales: aumenta las actividades citotóxica y fagocítica, la adhesión celu-

lar y el metabolismo oxidativo del PMN y del macrófago maduro e incrementa la citotoxicidad y la síntesis de leucotrienos por el eosinófilo maduro.

EFFECTOS DEL FEC-M

Estimula la proliferación de los monocitos, prolonga la supervivencia tisular del macrófago una vez diferenciado y aumenta su actividad antitumoral.

EFFECTOS DE LA IL-3

Se trata de una glicoproteína que ha sido caracterizada, purificada y clonada. Difiere de otras hemopoyetinas en que la producen únicamente los linfocitos T activados. Se la denomina también factor multiestimulador de colonias porque, debido a su acción sobre precursores tempranos, influye en la producción de neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos, plaquetas y glóbulos rojos, efectos que son más evidentes cuando se emplea en forma sinérgica con otros FCH de acción más tardía.

EFFECTOS DE LA ERITROPOYETINA

Su aplicación clínica es uno de los ejemplos más convincentes de la utilidad de los FCH para tratar la enfermedad en el humano: estimula y regula la eritropoyesis al influir sobre la unidad formadora de colonias de eritrocitos. La mayor parte de la eritropoyetina se origina en el riñón por lo que su uso más preciso es cuando el paciente cursa con anemia secundaria a la insuficiencia renal crónica (8). Su aplicación se ha extendido a otras entidades desde que se comprueben estados deficitarios con niveles séricos inferiores a 500 mU/ml, como en la anemia de los pacientes con SIDA, tumores sólidos y mieloma múltiple (9,10). También se la ha usado para incrementar la tolerancia de los pacientes a la flebotomía, en particular cuando se hace recolección preoperatoria de sangre.

FACTORES INHIBITORIOS

Es de anotar que, además de los factores estimulantes, también existen los inhibidores. Del equilibrio entre ellos depende la sucesión de eventos que dan lugar a la hematopoyesis. Entre los últimos se destacan el factor beta de crecimiento y transformación,

la interleukina 2 (IL-2), el interferón gama y las prostaglandinas (7).

FARMACOLOGIA

Aunque el FEC-G y el FEC-GM se encuentran glicosilados en su forma natural, la glicosilación no parece importante para sus funciones biológicas. Se pueden usar por vía subcutánea o intravenosa en forma de bolo o por infusión continua. La dosis promedio de ambos es de 5-10 µg/kg de peso.

La estimulación máxima de la hematopoyesis debería ocurrir con la exposición continua de los progenitores a estos factores. El seguimiento farmacocinético ha mostrado depuración rápida después de bolos intravenosos y concentraciones séricas prolongadas con el suministro subcutáneo o por infusión IV continua. Después de inyección subcutánea el pico de las concentraciones séricas se da de 4-6 horas. Después de la dosis promedio se detectan concentraciones séricas por más de 16 horas (11).

REACCIONES ADVERSAS

En general los FCH son bien tolerados a las dosis recomendadas. El efecto colateral más común es el dolor óseo que ocurre entre 10 y 20% de los pacientes y no obliga a suspender el medicamento. Se han descrito vasculitis, brote cutáneo y síndrome de Sweet (infiltración dérmica de PMN). En dosis altas, por encima de 20 µg/kg/día, el FEC-GM se ha asociado a derrames pleurales, pericárdicos y ascitis, trombosis venosa y embolismo pulmonar. Así mismo, este FCH produce en ocasiones fiebre, lo que puede llevar a alguna dificultad de interpretación clínica cuando se trata de un paciente neutropénico febril.

APLICACIONES TERAPEUTICAS

Se ha dirigido su uso en especial hacia las diferentes entidades que cursan con neutropenia. Desde los trabajos de Bodey (12) en 1966 se demostró que el riesgo de que los pacientes leucémicos contraigan infección aumentaba de acuerdo con la severidad y la duración de la granulocitopenia, bien fuera por la enfermedad de base o por la quimioterapia. Esto es válido no sólo en los casos agudos o transitorios sino también en los de neutropenia crónica. Como respuesta, se postuló el uso de transfusiones

de granulocitos pero cayeron rápidamente en desuso porque no alcanzaban a modificar el curso de la enfermedad dadas las limitaciones del número bajo de leucocitos recolectados y de la corta vida media de los PMN en sangre. Sin embargo, en los últimos tiempos, según algunos informes, se quiere revivir la transfusión de granulocitos después de estimular neutrofilia en el donante mediante la aplicación de FEC-G (13). Una estrategia aceptada por la comunidad científica es el uso empírico de antibióticos en el neutropénico febril (14).

Un verdadero hito en la lucha contra la neutropenia lo constituye la aplicación de FCH. Tal como se observa en la Figura N° 2, tomada del trabajo de Crawford (15), realizado en pacientes con cáncer de células pequeñas de pulmón, el grupo que recibió FEC-G presentó menor duración (D) y un nadir (N) menos bajo de neutropenia comparado con el grupo placebo de tal forma que el área (A) circunscrita por la duración y el nadir fue menor.

RECuento PMN COMO FUNCION DEL TIEMPO

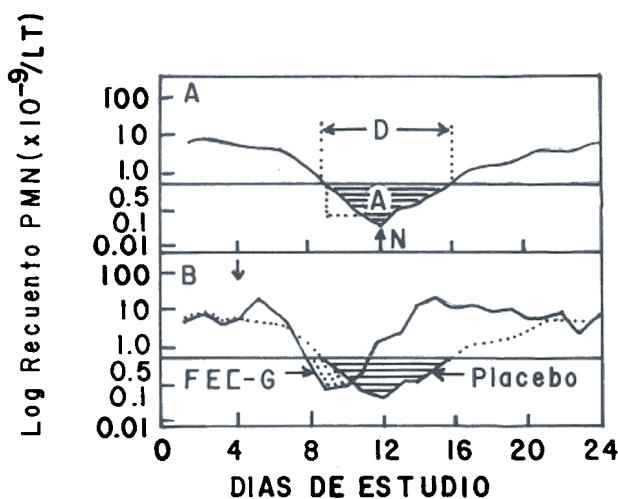


FIGURA N° 2

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE FEC-G EN PACIENTES CON CANCER DE CELULAS PEQUEÑAS DEL PULMON

NEUTROPENIA AGUDA

Las consecuencias inevitables de la quimioterapia anticancerosa son la neutropenia y la trombocitopenia que pueden conducir a la muerte antes de que se obtenga remisión de la enfermedad. En varios trabajos se han aplicado FCH profilácticos después de culminada la quimioterapia; hay experiencia en cáncer de células pequeñas de pulmón, urotelial, mama, colon, ovario, linfoma y mieloma. Aunque no se han obtenido beneficios en cuanto a eventos clínicos en el sentido de infecciones documentadas por cultivos, la mayoría de los trabajos han demostrado reducción del período de neutropenia y disminución en la incidencia de neutropénicos febriles; la menor morbimortalidad ha permitido usar antibióticos por menos días reduciendo la estancia y los costos hospitalarios. Como consecuencia, se han diseñado protocolos con regímenes quimioterapéuticos más intensivos.

De otro lado, en especial con el FEC-G, se ha logrado disminuir la incidencia de mucositis lo que trae como resultado menos infecciones, antibióticos, nutrición parenteral, días y costos hospitalarios (16,17).

TRASPLANTE DE MEDULA OSEA

Es otra estrategia para combatir la neutropenia o la trombocitopenia severas, principales factores limitantes de las dosis de quimioterapia, que obligan a disminuir su intensidad o a espaciar sus ciclos.

El estudio más representativo es el doble ciego, aleatorio, prospectivo de Nemunaitis y colaboradores (18): en pacientes con neoplasias de origen linfoide (leucemias agudas o crónicas, linfomas y enfermedad de Hodgkin) que recibían terapia mioablativa seguida por trasplante autólogo de médula ósea usaron FEC-GM o placebo; a los 19 días hubo recuperación de los PMN por encima de 500/mm³ en el grupo que recibió FEC-GM frente a 26 días del grupo placebo. Los primeros requirieron 3 días menos de antibióticos y 6 días menos de hospitalización y tuvieron menor incidencia de mucositis. Estos resultados se han reproducido en otros ensayos clínicos pero utilizando controles históricos y no sólo con FEC-GM sino también con FEC-G (19).

El análisis del beneficio clínico es más difícil cuando se emplean los FCH en el trasplante alogénico, pues en teoría el FEC-GM afecta la reacción

injerto vs. huésped; además porque la profilaxis y terapia de esta enfermedad, propia del trasplante alogénico, involucra agentes que por sí mismos afectan la recuperación hematopoyética, como el Metotrexate.

TRASPLANTE DE CELULAS TALLO DE SANGRE PERIFERICA

Un avance que está revolucionando el panorama del trasplante de médula ósea y por lo tanto el problema de la neutropenia y trombocitopenia severas, es el trasplante de células tallo pluripotenciales. Se basa en el descubrimiento de que éstas pueden ser movilizadas de la médula ósea hacia la sangre periférica con la aplicación de los FCH o de citostáticos como la ciclofosfamida. Alrededor de 16 días después de suministrar tales sustancias el número de células tallo pluripotenciales se incrementa 14 veces por encima de los valores basales y el incremento persiste 4-5 días; durante este lapso se efectúa la leucoféresis o recolección para reinfundir una vez se aplique la quimioterapia a dosis plena mieloablative (20).

Este procedimiento puede recuperar y sostener la función hematopoyética tanto como el trasplante de médula ósea, con la ventaja de ahorrar costos y de ser viable aun en casos en que no está indicado el trasplante, como cuando la médula ósea se halla afectada por la misma enfermedad de base. Su facilidad técnica ha permitido formular protocolos de trasplante en pacientes ambulatorios.

LEUCEMIA AGUDA

El uso de los FCH en la leucemia aguda es aún experimental. En general se ha visto que disminuyen el período de neutropenia y la morbimortalidad que sigue a la quimioterapia. Sin embargo, no en todos los casos ha habido aumento en el porcentaje de pacientes con remisión completa sino que ésta se ha mantenido estable lo que sugiere que los FCH desmascaran la enfermedad refractaria.

En los trabajos *in vivo* no se ha comprobado estimulación leucémica pero *in vitro* inducen proliferación de la clona leucémica; su aplicación sostenida por más largo plazo, sin embargo, induce diferenciación normal de la población leucémica.

En fechas recientes se ha trabajado experimentalmente con los FCH con el fin de superar la resistencia citoquinética de la clona leucémica a los citotóxicos. La experiencia consiste en lo siguiente: la citarabina, piedra angular de la terapia de la leucemia mieloide aguda, es tomada por las células leucémicas mediante difusión facilitada y secuencialmente fosforilada a su metabolito activo, arabinósido de citosina trifosfato; ésta es una sustancia específica de ciclo que ejerce su efecto citotóxico en células en fase S o de síntesis activa de DNA, de tal modo que la población leucémica que permanezca en fase quiescente (Go) durante la exposición a la citarabina puede escapar a su citotoxicidad. Como estrategia se ha efectuado reclutamiento de estas poblaciones en fase S mediante la aplicación de los FCH previa al quimioterápico (21).

SINDROMES MIELODISPLASICOS

Son un grupo heterogéneo de desórdenes caracterizados por la expansión clonal de una población anormal de células tallo resultando en hematopoyesis inefectiva con supresión del crecimiento celular normal. En consecuencia, los pacientes desarrollan pancitopenia progresiva y los de un subgrupo sufren transformación a leucemia aguda.

En varios trabajos se demostró cómo la utilización de los FCH aumentaba el número y la función de los granulocitos con disminución de las tasas de infección; en unos pocos pacientes, en especial los que recibieron FEC-GM, disminuyeron los requerimientos de transfusión de glóbulos rojos pero los niveles de plaquetas permanecieron constantes (22). Se ha postulado la hipótesis de que los FCH inducen maduración de la clona anormal.

SIDA

El tratamiento del SIDA se complica a menudo por falla hematopoyética primaria pues se sabe que el VIH infecta las células tallo (23). Además, las terapias antiviral con zidovudina y anti-infecciosa con gancyclovir para la infección oportunista por CMV, son mielotóxicas. El primer trabajo aplicando FCH en seres humanos se realizó en pacientes con SIDA: se demostró corrección importante de la leucopenia (24). Hoy se utilizan tanto eritropoyetina como FEC-G o FEC-GM en pacientes con esta enfermedad, lo

que permite sostener dosis terapéuticas de los medicamentos antivirales y anti-infecciosos sin aumento en la antigenemia p24 (25).

ANEMIA APLASTICA

El uso de los FCH en esta enfermedad aún se considera experimental. Ha habido respuesta en casos moderados en los que con FEC-G y GM ha aumentado el número de granulocitos pero en general pacientes con hipoplasia muy severa no responden a ningún agente. El efecto granulopoyético requiere el uso continuo. Actualmente se adelantan trabajos combinando FCH de acción temprana como IL-3 con otros de acción tardía como FEC-G o GM (26).

NEUTROPENIA CRONICA

La neutropenia congénita, la idiopática crónica y la cíclica son un grupo heterogéneo e infrecuente de trastornos resultantes de defectos reguladores en los receptores para los FCH en las superficies de las células tallo precursoras o en las señales post-receptor. No ha habido una terapia efectiva pero los estudios iniciales con el uso a largo plazo del FEC-G muestran una reducción sustancial de la infección y la morbilidad (27,28).

AGRANULOCITOSIS INDUCIDA POR DROGAS

La agranulocitosis es uno de los efectos colaterales adversos de muchos medicamentos. Cada vez son más frecuentes los informes acerca del uso de los FCH en esta complicación; así se encuentra el uso del FEC-G para la neutropenia inducida por Metotrexate acompañado de Leucovorin y Colestiramina en artritis reumatoidea (29); otras indicaciones son: agranulocitosis producida por Hidantoína, Metimazole, Clomipramine, Clozapine, Dapsone o sales de oro (30-34).

TROMBOCITOPENIA

La trombocitopenia, como la granulocitopenia, es un factor adverso que limita la dosis de los antineoplásicos. El FEC-G y el FEC-GM no afectan su curso. Sin embargo, estudios iniciales han demostrado que la IL-1 alfa por vía intravenosa incrementa la produc-

ción de las IL-6 y 11, dos trombopoyetinas de suma importancia para expandir la población de megacariocitos en la médula ósea con el consiguiente incremento del recuento de plaquetas; así fue informado en 43 pacientes que habían recibido dosis altas de Carboplatino para diferentes neoplasias avanzadas (35). Los que recibieron IL-1 alfa tuvieron recuperación más acelerada de plaquetas que los controles.

Se ha utilizado la IL-3 con este mismo fin pero los resultados preliminares han sido contradictorios en cuanto a la recuperación de las plaquetas y con el inconveniente de una mayor incidencia de efectos colaterales como fiebre, cefalea, exantema, síndrome de escape capilar, fibrilación auricular, meningismo y rigidez semejante a la del Parkinson.

A medida que otras citoquinas como las IL-6 y 11 estén disponibles para ensayos clínicos se podrá contar con excelentes medios para combatir la temible trombocitopenia que causa la muerte por complicaciones hemorrágicas.

SUMMARY CLINICAL USE OF HEMATOPOIETIC GROWTH FACTORS

Hematopoietic growth factors are one of the products of the exciting and promising molecular biology and genetic engineering industries. Two of these factors are the recombinant human-granulocyte colony-stimulating factor and the recombinant human-granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; a review is presented on their pharmacology and clinical uses in acute neutropenia after myelotoxic anti-cancer therapy, bone marrow transplantation, acute leukemia, myelodysplastic syndromes, aplastic anemia, AIDS and chronic neutropenia.

BIBLIOGRAFIA

1. CARNOT P, DEFLANDRE C. Sur l'activité hémapoiétique des différents organes au cours de la régénération du sang. *CR Hebd Acad Sci* 1906; 143: 432-435.
2. BRADLEY TR, METCALF D. The growth of mouse bone marrow cells in vitro. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1966; 44: 287-299.
3. METCALF D. The granulocyte-macrophage colony stimulating factors. *Science* 1985; 229: 16-22.
4. GROOPMAN J, MOLINA JM, SCADDEN D. Hematopoietic growth factors. *N Engl J Med* 1989; 321: 1449-1459.

5. CLARK S, KAMEN R. The human hematopoietic colony stimulating factors. *Science* 1987; 236: 1229-1237.
6. METCALF D. The molecular biology and functions of the granulocyte-macrophage colony stimulating factors. *Blood* 1986; 67: 257-267.
7. QUESENBERRY P. Hemopoietic stem cells, progenitor cells and growth factors. In: WILLEAMS WJ, BEUTLER E, ERSLEV AJ, LICHTMAN LA. eds. Hematology, 4th ed. New York: McGraw-Hill, 1990: 129-147.
8. ESCHBACH J, EGRIE J, DOWNING M et al. Correction of the anemia of end stage renal disease with recombinant human erythropoietin. *N Engl J Med* 1987; 316: 73-78.
9. MILLER C, JONES R, PIANTADOSI S, et al. Decreased erythropoietin response in patients with the anemia of cancer. *N Engl J Med* 1990; 322: 1689-1692.
10. LUDWIG H, FRITZ H, KOTZMANN H et al. Erythropoietin treatment of anemia associated with multiple myeloma. *N Engl J Med* 1990; 322: 1693-1699.
11. STEWARD W. Granulocyte and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Lancet* 1993; 342: 153-157.
12. BODEY GP, BUCKLEY M, SATHE YS et al. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1966; 64: 328-340.
13. BENSINGER WI, PRICE TH, DALE DC et al. The effects of daily recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration on normal granulocyte donors undergoing leukopheresis. *Blood* 1993; 81: 1883-1888.
14. The EORTC International Antimicrobial Therapy Cooperative Group. Ceftazidime combined with a short or long course of amikacin for empirical therapy of gram negative bacteremia in cancer patients with granulocytopenia. *N Engl J Med* 1987; 317: 1692-1698.
15. CRAWFORD J, OZER H, STOLLER R et al. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small cell lung cancer. *N Engl J Med* 1991; 325: 164-170.
16. LIESCHKE GJ, BURGESS AW. Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (first part). *N Engl J Med* 1992; 327: 28-35.
17. LIESCHKE GJ, BURGESS AW. Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte macrophage colony stimulating factor (second part). *N Engl J Med* 1992; 327: 99-106.
18. NEMUNAITIS J, RABINOWE SN, SINGER JW et al. Recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor after autologous bone marrow transplantation for lymphoid cancer. *N Engl J Med* 1991; 324: 1773-1778.
19. SHERIDAN WP, MORSTYN G, WOLF M et al. Granulocyte colony-stimulating factor and neutrophil recovery after high dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation. *Lancet* 1989; 2: 891-895.
20. KESSINGER A. Utilization of peripheral blood stem cells in autotransplantation. *Hematol Oncol Clin North Am* 1993; 7: 535-545.
21. BERNSTEIN S. Growth factors in the management of adult acute leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 1993; 7: 255-274.
22. VADHAN-RAJ S, KEATING M, LEMAISTRE A et al. Effects of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 1987; 317: 1545-1552.
23. FOLKS T. Human immunodeficiency virus in bone marrow: still more questions than answers. *Blood* 1991; 77: 1625-1626.
24. GROOPMAN JE, MITSUYASU RT, DELEO MJK et al. Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on myelopoiesis in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1987; 317: 593-598.
25. LEVINE J, ALLAN D, TESSITORE J et al. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor ameliorates zidovudine-induced neutropenia in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)/AIDS-related complex. *Blood* 1991; 78: 3148-3154.
26. GEISLER K, FORSTINGER C, KALHS P et al. Effect of interleukin 3 on responsiveness to granulocyte-colony stimulating factor in severe aplastic anemia. *Ann Intern Med* 1992; 117: 223-225.
27. HAMMOND WP, PRICE TH, SOUZA LA et al. Treatment of cyclic neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *N Engl J Med* 1989; 320: 1306-1311.
28. DALE DC, HAMMOND WP, GABRILOVE J et al. Long-term treatment of severe chronic neutropenia with recombinant human granulocyte factor. *Blood* 1990; 76 Suppl 1: 139 Abstract.
29. ELLMAN M, TELFER M, TURNER A. Benefit of G-CSF for Methotrexate-induced neutropenia in rheumatoid arthritis. *Am J Med* 1992; 92: 337-338.
30. TAJIRI J, NOGUCHI S, OKAMURA S et al. Granulocyte colony-stimulating factor treatment of antithyroid drug-induced granulocytopenia. *Arch Intern Med* 1993; 153: 509-514.
31. HUNT KA, RESNICK MP. Clomipramine-induced agranulocytosis and its treatment with G-CSF (letter). *Am J Psychiat* 1993; 150: 522-523.
32. GERSON SL, GULLION G, YEH HS et al. Granulocyte colony-stimulating factor for clozapine-induced agranulocytosis (letter). *Lancet* 1992; 340 (8827): 1097.
33. MIYAGAWA S, SHIOMI Y, FUKUMOTO T et al. Recombinant granulocyte colony-stimulating factor for dapsone-induced agranulocytosis in leukocytoclastic vasculitis. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 659-661.
34. COLLINS DA, TOBIAS JH, HILL RP et al. Reversal of gold induced neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *Br J Rheumatol* 1993; 32 Suppl 6: 518-520.
35. SMITH J, LONGO D, ALVORD G et al. The effects of treatment with interleukin-1 alfa on platelet recovery after high dose carboplatin. *N Engl J Med* 1993; 328: 756-761.