

Strokovni prispevek/Professional article

RASTNE LASTNOSTI CIRKULIRAJOČIH KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC PRI KRONIČNI LEDVIČNI ODPOVEDI

PROLIFERATION OF CIRCULATING HEMATOPOIETIC STEM CELLS IN CHRONIC RENAL FAILURE

Marjana Glaser

Oddelek za hematologijo in hematološko onkologijo, Interna klinika, Učna bolnišnica Maribor, Ljubljanska 5, 2000 Maribor

Prispelo 2004-02-13, sprejeto 2004-03-16; ZDRAV VESTN 2004; 73: Suppl. I: 89-92

Ključne besede: kronična ledvična odpoved; uremija; cirkulirajoče matične celice; CFU GEMM; CFU GM; BFU E; anemija

Izvleček – Izhodišča. Anemija pri kronični ledvični odpovedi najverjetneje nastane zaradi več dejavnikov. Namen naše raziskave je bil potrditi hipotezo, da so vzroki za nastanek anemije na višji ravni matičnih celic. Poleg BFU E, ki potrebujejo za rast eritropoetin, smo iz periferni krvi še kultivirali matične celice, ki eritropoetina za rast ne potrebujejo: CFU GM in CFU GEMM.

Bolniki in metode. BFU E, CFU GM in CFU GEMM iz periferni krvi smo raziskovali pri 65 bolnikih z uremijo, ki so se zdravili s hemodializo trikrat tedensko. Vsi bolniki so imeli anemijo. Da bi ugotovili vpliv uremije na rast kultur celic, smo bolnike razdelili v dve skupini: skupino bolnikov s kreatininom < 900 µmol/L (24 bolnikov) in skupino s kreatininom > 900 µmol/L (41 bolnikov). Hematopoetske matične celice smo kultivirali na metilcelulozi z dodatkom rastnih dejavnikov.

Rezultati. Rast kolonij BFU E in CFU GM je bila statistično značilno inhibirana v celotni skupini bolnikov in rast CFU GEMM statistično značilno inhibirana pri bolnikih v skupini s kreatininom > 900 µmol/L. Pozitivna korelacija med rastjo kolonij CFU GM in BFU E, CFU GEMM in BFU E in CFU GM in CFU GEMM je bila ugotovljena v celotni skupini bolnikov, v isti skupini pa tudi negativna korelacija med rastjo kolonij CFU GEMM, CFU GM in BFU E in koncentracijo sečnine. V skupini 1 je bila ugotovljena negativna korelacija med rastjo kolonij BFU E in CFU GM in koncentracijo kreatinina, v skupini 2 pa negativna korelacija med rastjo kolonij BFU E in CFU GM ter koncentracijo sečnine.

Zaključki. Glede na naše ugotovitve zaključujemo, da je koncentracija eritropoetina, čeprav v mejah normale, prenizka glede na stopnjo anemije. Pri bolnikih smo ugotovili signifikantno zmanjšano rast kolonij matičnih celic, ki so korelirale s stopnjo uremije. To potrjuje našo hipotezo, da je hematopoeza zavirana zaradi različnih dejavnikov.

Key words: chronic renal failure; uremia; circulating stem cells; BFU E; CFU GM; CFU GEMM; anemia

Abstract – Background. The cause of anemia in chronic renal failure seems to be multifactorial. The aim of our investigation was to verify the hypothesis that the causes of anemia are at a higher stem cell level. Therefore, beside peripheral blood BFU E which require erythropoietin, we cultivated peripheral blood stem cells which do not require it – CFU GM and CFU GEMM.

Patients and methods. Peripheral blood BFU E, CFU GM and CFU GEMM were studied in 65 uremic patients who were placed on maintenance hemodialysis three times weekly. All were anemic. In regard to creatinine concentration they were divided into Group 1 with creatinine concentration < 900 µmol/L (24 pts) and Group 2 with creatinine concentration > 900 µmol/L (41 pts). Hematopoietic colony-forming cells from blood were assayed in a methylcellulose culture with growth factor addition.

Results. The growth of colonies BFU E and CFU GM was significantly inhibited in whole group of patients, growth of CFU GEMM was significantly inhibited in the Group 2. A positive correlation of the CFU GM and BFU E, CFU GEMM and BFU E and CFU GM and CFU GEMM colonies was found in the whole group of patients. There was a negative correlation between the growth of the CFU GEMM, CFU GM and BFU E colonies and the urea concentration in the entire group of patients. In Group 1 a negative correlation was found between the growth of the BFU E and CFU GM colonies and creatinine concentration. In the Group 2 a negative correlation between growth of the BFU E and CFU GM and urea concentration was found.

Conclusions. According to our study, erythropoietin concentration, although normal, is still too low with regard to the grade of anemia. In patients the number of stem cell colonies was decreased significantly, correlating with the severity of uremia. This confirms the hypothesis that disturbed hematopoiesis in uremia is affected by additional factors and that their influence in uremia is permanent.

Uvod

Značilnost primitivnih krvotvornih matičnih celic (KMC) je, da lahko zapustijo kostni mozeg in krožijo po krvi. Pri zdravih najdemo v krvi KMC (PB KMC), ki na poltrdih gojiščih tvorijo kolonije usmerjenih matičnih celic (enot) za granulocyte-erythrocyte-monocyte-megakariocyte (colony forming unit granulocyte-erythrocyte-monocyte-megakariocyte - CFU GEMM), za granulocyte in monocite (colony forming unit granulocyte-monocyte - CFU GM) ter kolonije usmerjenih matičnih celic (»bursts«) za eritrocite (burst forming unit erythroid - BFU E), ki so primitivnejše kot njihove soimenjakinje iz kostnega mozga (1). Skupna značilnost teh celic je, da potrebujejo za rast številne rastne hormone, predvsem pa interleukin 3 (IL 3) (2). Med hematološkimi spremembami kronične ledvične odpovedi (KLO) je najočitnejša normocitna, normohromna anemija in velika nagnjenost k okužbam. Mehanizem nastanka anemije ni dokončno razjasnjen, vendar je njen glavni vzrok sorazmerno pomanjkanje eritropoetina (EPO) (3). Mnogo raziskav je bilo posvečenih vplivu uremičnih toksinov, kot sta poliamina spermin in spermidin, ki in vitro zavirata eritropoezo (4), parathormon, ki poleg fibroze kostnega mozga poveča odpornost eritroblastov na EPO (5), in ribonukleaza, za katero so dokazali, da in vitro zavira rast CFU E (6). Med redkejšimi hematološkimi spremembami opisujejo povečano število nevtrofilcev, čeprav njihovo število po stimulaciji s hidrokortizonom pri nedializiranih in dializiranih bolnikih ne naraste (7). Zadnja leta se za zdravljenje anemije pri KLO uporablja rekombinantni humani EPO (rhu EPO). Odmerki, potrebni za zdravljenje ledvične anemije pri bolnikih, niso enaki in se ne ujemajo s stopnjo anemije (8).

Prav tako še ni popolnoma jasno, ali niso oziroma v koliki meri so vpleteni v patogenezo anemije še drugi mehanizmi in sistemi, predvsem monocitno makrofagni sistem, ki ima vlogo hematopoetske strome in izloča faktorje, ki stimulirajo kolonije (CFU) (9).

Da bi preverili vpliv hematopoetske strome na rast primitivnejših matičnih celic, je bil cilj raziskave proučiti klonogeno in proliferacijsko sposobnost primitivnejših matičnih celic iz periferne krvi (PB) : BFU E, CFU GM in CFU GEMM.

Bolniki in metode

Bolniki

V raziskavo smo vključili 65 bolnikov s KLO in normocitno normohromno anemijo, ki so bili zdravljeni s hemodializo trikrat tedensko. Starost bolnikov je bila 20 do 79 let. Bolniki 1 mesec niso prejeli transfuzije krvi niti niso bili prej zdravljeni z rhu EPO. Pred študijo so podpisali privolitev v skladu s Helsinško deklaracijo.

Razdelili smo jih v dve skupini : skupina 1 (24 bolnikov) je imela koncentracijo kreatinina < 900 $\mu\text{mol/L}$, skupina 2 (41 bolnikov) je imela koncentracijo kreatinina > 900 $\mu\text{mol/L}$.

Poleg krvne slike in razmaza smo bolnikom določili koncentracijo sečnine, kreatinina, sečne kisline, natrija, kalija, klora. Koncentracijo plazemskega EPO smo določili z ELISA test Predicta® Eritropoetin Kit, Genzyme Diagnostics.

Kot kontrolno skupino smo testirali 30 zdravih prostovoljcev v starosti 20 do 76 let.

Metode dela – kratkotrajna kultivacija matičnih celic na metilcelulozi

Iz 20 ml periferne krvi, odvzete v heparinizirane epruvete pred hemodializo, smo pripravili neadherentne mononuklearne celice (MNC) s centrifugiranjem preko Fikola (gostota 1,077 g/ml) (Lymphoprep™, Nycomed Pharma AS, Oslo) pri 500 g za 30 min. Po centrifugiranju smo prelili MNC v sterilne

epruvete, v katerih je bilo 4 ml sterilnega medija RPMI 1640. Zmes smo centrifugirali dvakrat 7 min na 650 g, nakar smo celice ponovno razredčili v 2 ml medija RPMI 1640. Koncentracijo MNC smo določili s pomočjo hemocitometra Burker-Turk, njihovo viabilnost pa s supravitalnim barvanjem s tripanskim modrilom.

Koncentraciji $1 \times 10^6/\text{ml}$ MNC smo dodali 1,35 ml zmesi za klonogeni test in vitro (MethoCult™ H 4431, StemCell Technologies Inc, Vancouver), ki vsebuje poleg 0,9% metilceluloze v Iscove's MDM, 30% fetalnega bovina seruma, 1% bovina albumina, 10^{-4} M 2-mercaptoethanola, 2 mM L-glutamina še 50 ng/mL rhu SCF, 10 ng/mL rhu IL 3, 10 ng/mL rhu GM-CSF, 3 enote /mL rhu EPO. Po 0,5 ml vzorca smo v triplicatu razlili v plastične posodice premera 15 mm (Multidish 4 Wells, Nunclon Delta SI, Nalge Nunc International) ter jih kultivirali 14 dni pri 37 °C v vlažnem okolju s 5% CO₂. Prednost kultiviranja na metilcelulozi je, da lahko v isti posodici kultiviramo hkrati kolonije BFU E, CFU GM in CFU GEMM.

Zrasle kolonije smo prešteli z invertnim mikroskopom.

Statistična analiza

Rezultati so podani kot srednja vrednost \pm SE. Statistično značilnost smo ocenili s Studentovim t-testom in F-testom. Če je bila vrednost p manjša od 0,05, je bila statistično značilna. Opravili smo tudi korelacijo dveh parametrov.

Rezultati

Hematološke značilnosti bolnikov

Hematološke značilnosti bolnikov so prikazane v razpredelnici 1.

Celotna skupina bolnikov se je statistično značilno razlikovala od kontrolne skupine zdravih oseb v vseh parametrih, razen v številu levkocitov. Skupina 1 in 2 sta se med seboj statistično značilno razlikovali v koncentraciji kreatinina ($p < 0,001$) in sečnine ($p < 0,001$). Koncentracija EPO ni bila statistično različna v nobeni skupini.

Cirkulirajoče KMC in njihova korelacija z različnimi parametri

Rast kolonij CFU GEMM je bila v celotni skupini bolnikov zmanjšana v primerjavi s kontrolno skupino, čeprav ne statistično značilna. V skupini 2 je bila rast istih kolonij statistično signifikantno nižja ($p < 0,002$) kot v skupini 1.

Rast kolonij CFU GM je bila statistično značilno manjša ($p < 0,04$) v celotni skupini bolnikov v primerjavi s kontrolno skupino. Med skupino 1 in skupino 2 ni bilo statistično značilno zmanjšane razlike v rasti kolonij CFU GM, medtem ko smo ugotovili statistično značilno zmanjšano rast te kolonije ($p < 0,005$) v skupini 2 v primerjavi s kontrolno skupino.

Rast kolonij BFU E je bila v celotni skupini bolnikov statistično značilno bolj zmanjšana ($p < 0,001$) kot v kontrolni skupini, v skupini 2 pa je bila rast iste kolonije statistično značilno zmanjšana v primerjavi z rastjo kolonij kontrolne skupine ($p < 0,002$). V celotni skupini bolnikov smo ugotovili korelacijo rasti kolonij CFU GEMM in BFU E ($r = 0,552$, $p < 0,01$) in CFU GM ($r = 0,35$, $p < 0,001$). Rast kolonij CFU GEMM ($r = 0,358$, $p < 0,01$), CFU GM ($r = 0,319$, $p < 0,05$) in BFU E ($r = 0,239$, $p < 0,05$) je negativno korelirala s koncentracijo sečnine.

V skupini 1 je bila ugotovljena korelacija rasti kolonij CFU GEMM in BFU E ($r = 0,780$, $p < 0,001$), CFU GEMM in CFU GM ($r = 0,845$, $p < 0,001$) in CFU GM in BFU E ($r = 0,845$, $p < 0,001$). V isti skupini smo ugotovili negativno korelacijo med rastjo kolonij BFU E ($r = 0,689$, $p < 0,03$) in CFU GM ($r = 0,582$, $p < 0,02$) in koncentracijo kreatinina ter med rastjo kolonij CFU GEMM in koncentracijo sečne kisline ($r = 0,467$, $p < 0,05$).

Razpr. 1. Hematološke značilnosti naših bolnikov s KLO.

Table 1. Blood characteristics of the patients with chronic renal failure.

	Vsi bolniki All patients	Skupina 1 Group 1	Skupina 2 Group 2
Število bolnikov No. of patients	65	24	41
Število eritrocitov ($\times 10^{12}/L$) Erythrocytes	2,97 \pm 0,4	2,89 \pm 0,55	3,02 \pm 0,41
Hemoglobin (g/L) Hemoglobin	90,1 \pm 1,4	87,2 \pm 3,2	91,4 \pm 4,5
Levkociti ($\times 10^9/L$) Leukocytes	7,06 \pm 3,01	6,31 \pm 1,07	7,49 \pm 3,8
Trombociti ($\times 10^9/L$) Thrombocytes	192,1 \pm 52,2	203,4 \pm 67	185,8 \pm 41,2
Kreatinin ($\mu\text{mol/L}$) Creatine	1001,2 \pm 233,7	771,75 \pm 100,13	1135 \pm 177,69
Urea (mmol/L) Urea	27,09 \pm 7,8	23,35 \pm 6,6	29,29 \pm 4,66
Sečna kislina ($\mu\text{mol/L}$) Uric acid	441,5 \pm 90	416,7 \pm 76,1	456,07 \pm 95,1
Natrij (mmol/L) Natrium	137,5 \pm 3,7	138,06 \pm 4,27	137,22 \pm 3,3
Kalij (mmol/L) Potassium	5,5 \pm 0,7	5,36 \pm 0,85	5,61 \pm 0,76
Kalcij (mmol/L) Calcium	2,2 \pm 0,3	2,27 \pm 0,23	2,25 \pm 0,35
Železo ($\mu\text{mol/L}$) Ferrum	12,2 \pm 5,5	11,66 \pm 3,89	12,06 \pm 5,7
Feritin ($\mu\text{g/L}$) Ferritine	240,4 \pm 234,6	300,43 \pm 245,6	200 \pm 102
CFU GEMM (kolonije/ 10^5 MNC) CFU GEMM (colonies/ 10^5 MNC)	1 \pm 1,7	1,62 \pm 2,36	0,68 \pm 1,27
CFU GM (kolonije/ 10^5 MNC) CFU GM (colonies/ 10^5 MNC)	11 \pm 13,7	11,33 \pm 11,86	10,75 \pm 14,74
BFU E (kolonije/ 10^5 MNC) BFU E (colonies/ 10^5 MNC)	31 \pm 21,8	36,8 \pm 30,11	27,12 \pm 13,82
EPO (IU/L)	16 \pm 15,8	16 \pm 14,6	16 \pm 16,7

Koncentracija EPO je v skupini 1 negativno korelirala s koncentracijo kreatinina ($r = 0,358$, $p < 0,02$).

V skupini 2 smo ugotovili korelacijo med rastjo kolonij CFU GM in BFU E ($r = 0,78$, $p < 0,01$), in negativno korelacijo med rastjo kolonij BFU E ($r = 0,44$, $p < 0,04$) in CFU GM ($r = 0,32$, $p < 0,03$) ter koncentracijo sečnine. Koncentracija EPO v tej skupini je negativno korelirala s koncentracijo železa ($r = 0,34$, $p < 0,05$).

Razpravljanje

V naši raziskavi smo analizirali PB KMC, ki so primitivnejše kot njihove soimenjakinje v kostnem mozgu (1) na metilcelulozi, ob dodatku rastnih hormonov, med katerimi sta bila dodana tudi za primitivnejše celice potrebna SCF in IL 3 (10).

V celotni skupini bolnikov smo ugotovili statistično zmanjšano rast kolonij BFU E in CFU GM, rast CFU GEMM pa je v isti skupini pozitivno korelirala z rastjo kolonij CFU GM in BFU E. V skupini z višjo koncentracijo kreatinina smo ugotovili statistično značilno zavrsto rast kolonij CFU GEMM, rast kolonij BFU E in CFU GM pa je bila manjša, čeprav ne statistično značilna. Med rastjo kolonij PB BFU E in CFU E in naraščanjem koncentracije kreatinina smo ugotovili negativno korelacijo. Če smo primerjali rast kolonij MKC med bolniki in kontrolno skupino, smo v skupini 2 ugotovili značilno zmanjšano rast kolonij PB BFU E in CFU GM ter negativno korelacijo rasti obeh kolonij s koncentracijo sečnine.

Koncentracija EPO je bila pri celotni skupini bolnikov v normalnih vrednostih, kar pa je neadekvatno z ozirom na stopnjo

anemije. Ker smo hkrati ugotovili zmanjšano rast kolonij BFU E, lahko potrdimo ugotovitve drugih raziskovalcev, da je zmanjšana koncentracija EPO eden glavnih povzročiteljev nastanka anemije pri bolnikih s KLO (11).

Število levkocitov v nobeni skupini ni bilo značilno zmanjšano ali zvečano. Ker smo v raziskavi ugotovili poleg manjše rasti kolonij CFU GM tudi zmanjšano rast kolonij CFU GEMM, ki so manj zrele prednice, lahko predpostavljamo, da je hematopoeza zavrta v celoti oziroma na višji ravni KMC.

Za razliko od dosedanjih raziskav smo v naši raziskavi analizirali tudi najprimitivnejše CFU GEMM, na katerih rast in diferenciacijo vpliva predvsem dejavnost za spodbujanje usmerjenih matičnih celic (burst promoting activity – BPA) (12). Ugotovili smo, da je rast kolonij korelirala z rastjo BFU E in CFU GM in je bila značilno zavrta z naraščajočo koncentracijo kreatinina.

Iz tega zaključujemo in smo potrdili hipotezo, da na razvoj motene hematopoeze in predvsem razvoja anemije v KLO vplivajo še drugi dejavniki, ki so nevezani na izločanje EPO. Hematopoeza je inhibirana v celoti in njena inhibicija je povezana s stopnjo uremije. Predpostavljamo, da je negativen učinek uremije na KMC trajen, zaradi česar je bila rast kolonij KMC zavrta kljub dodatku rastnih dejavnikov v kulturi celic.

Na podlagi naše ugotovitve lahko razložimo tudi v uvodu omenjeni glavni hematološki značilnosti KLO – anemijo in nagnjenost h okužbam. Znano je, da pri bolnikih s KLO ni enotnega odmerka rhu EPO za zdravljenje anemije. Odmerek tudi ne korelira s stopnjo anemije. Že v predhodnih študijah so ugotovili, da se po zdravljenju z rhu EPO število kolonij BFU E iz kostnega mozga prvi teden poveča, nato pa statistično značilno zmanjša. BFU E iz prvega tedna so »pozni BFU E«, ki imajo že receptorje za EPO, medtem pa kasnejše kolonije zrastejo le iz »zgodnjih BFU E«, ki teh receptorjev nimajo (8, 10), kar govori za moteno hematopoezo. Z enako motnjo bolniki s KLO slabše prenašajo in se odzivajo na stres, predvsem pa so izredno občutljivi na okužbe zaradi zmanjšane granulocitne rezerve (7).

Z iskanjem vzrokov patogeneze anemije ob KLO so se ukvarjale sicer že številne predhodne raziskave, ki so raziskovale predvsem vpliv uremičnih toksinov na rast kolonij CFU E ali BFU E iz kostnega mozga (13, 14). Žal v nobeni teh študij niso omenili priprave uporabljene uremičnega seruma pred tem, niso upoštevali morebitnih imunoloških vplivov in tudi uporabljene koncentracije teh serumov so se razlikovale. Večina študij, v katerih so uporabljene PB KMC, pa se nanaša na hematološke bolezni, medtem ko je le nekaj raziskav, v katerih so študirali PB BFU E pri KLO (10).

Nedvomno je EPO je glavni regulacijski hormon za diferenciacijo zrelih eritroidnih prednic iz kostnega mozga, kot sta CFU E in pozni BFU E (15). V naši raziskavi smo kultivirali nezrele (zgodnje BFU E), ki še nimajo receptorjev za EPO. Za svojo rast in razvoj potrebujejo IL 3, ki je sestavni del BPA (16). BPA izločajo limfociti T_H, katerih je pri bolnikih, zdravljenih z intermitentno hemodializo, manj (17). Inhibicija je menda trajna in korelira s stopnjo uremije (16). Na aktivacijo komplementa in monocitov ima trajen učinek tudi sam dializni postopek (17). Monociti izločajo ob vsakem postopku večje količine vnetnih monokinov, predvsem IL 6 in IL 12 (17), ki prav tako preprečujejo delovanje že tako zaradi uremije oslabljenih limfocitov T (18).

Na podlagi naših podatkov in podatkov o spremenjenem imunskem sistemu, predvsem delovanju limfocitov T, aktivaciji komplementa in vlogi monocitov pri bolnikih s KLO, menimo, da so za spremembe, ugotovljene v naši raziskavi, odgovorni:

zmanjšano izločanje rastnih dejavnikov (citokinov), predvsem IL 3, in povečano nastajanje vnetnih monokinov z inhibicijskim delovanjem na hematopoezo. Nedvomno pa ima na to svoj vpliv tudi sam postopek hemodialize.

Literatura

1. Abboud CN, Liesveld JL. Granulopoiesis and monocitopoiesis. In: Hoffman R, Benz EJ, Jr, Shattil SJ et al. Basic principles and practice, 2nd ed. New York, Edinburgh, London: Churchill Livingstone 1995: 255-86.
2. Molecular biology and cytokines. In: Munker R, Hiller E, Paquette R eds. Modern hematology. Totowa, New Jersey: Humana Press 2000: 19-34.
3. Eschbach JW, Adamson JW, Cook JD. Disorders of red blood cell production in uremia. Arch Intern Med 1970; 126: 812-5.
4. Radtke HW, Rege AB, La Marche MB, Bartos D et al. Identification of spermine as an inhibitor of erythropoiesis in patients with chronic renal failure. J Clin Invest 1981; 61: 1623-9.
5. Meytes D, Bogin EMA, Dukex PP, Masry G. Effect of parathyroid hormone on erythropoiesis. J Clin Invest 1981; 67: 1263-9.
6. Eschbach JW. Hemathological problems of dialysis patients. In: Maher JF ed. Replacement of renal function by dialysis. 3rd ed. Dordrecht, Boston, Lancaster: Kluwer Academic Publishers 1989: 851-64.
7. Morra L, Ponassi G, Gurreri F, Moccia F, Caristo G et al. Alterations of erythropoiesis in chronic uremic patients treated with intermittent hemodialysis. Biomedicine & Pharmacotherapy 1987; 41: 396-9.
8. Means RT, Krantz SB. Progress in understanding the pathogenesis of the anemia in chronic disease. Blood 1992; 80: 1639-47.
9. Williams DA. Stem cell model of hematopoiesis. In: Hoffman R, Benz EJ, Jr, Shattil SJ et al. Basic principles and practice. 2nd ed. New York, Edinburgh, London: Churchill Livingstone 1995: 180-92.
10. Matsuzaki Y, Mizuguchi T, Kosaka M, Saito S. Analysis of circulating hematopoietic progenitors in patients with chronic renal failure under hemodialysis. Int J Hematol 1995; 63: 33-40.
11. De Klerk G, Wilmink JM, Rosengarten PCJ, Vet RJWM et al. Serum erythropoietin titers in anemia of chronic renal failure. J Lab Clin med 1982; 100: 720-34.
12. Pavletic Z, Labar B. Hematopoetski faktori rasta. Lijec Vjes 1990; 112: 339-46.
13. Corazza F, Bergmann P, Dratwa M, Guns M, Fondu P. Responsiveness to recombinant erythropoietin therapy in end stage renal disease. An analysis of the predictive value of several biological measurements, including circulating erythroid progenitors. Nephrol Dial Transplant 1992; 7: 311-7.
14. Allen DA, Breen C, Yaqoob MM, Mac Dougall IC. Inhibition of CFU E colony formation in uremic patients with inflammatory disease: role of IFN α and TNF α . J Invent Med 1999; 47: 204-11.
15. Labar B. Eritrocitopoeza, biokemija i funkcija eritrocita. In: Jakšić B, Labar B, Grgičević D eds. Hematologija i transfuziologija. Zagreb: UMENA, 1989: 23-32.
16. Morra L, Ponassi AG, Gurreri G, Moccia F, Mela GS et al. Inadequate ability of T lymphocytes from chronic uremic subjects to stimulate the in vitro growth of committed erythroid progenitors (BFU E). Acta Haematol 1988; 79: 187-91.
17. Girndt M, Sester M, Sester U, Kaul H, Köhler H. Molecular aspects of T and B cell function in uremia. Kidney Int 2001; 59: 206-11.
18. Bier V, Debantin KM, Bosh A, Hoffman HG, Müller-Wiefe DE et al. Is interleukin (IL 3) a critical haematopoietic growth factor in uremia? Proc Eur Congr Dial Transplant 1990.