

ОПЕРАЦИЯ ПЕРЕСАДКИ КОСТНОГО МОЗГА С ТРАНСПОРТОМ МАГНИТОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ЦИТОСТАТИКА

С.В.Панько, С.С.Панько, Г.Я.Хулуп, Ю.Н.Семенидо, И.Н.Гришин,
А.В.Санин, А.М.Демецкий, А.С.Карпицкий, С.С.Стебунов, Ю.Г.Антипов,
А.В.Цецохо, О.Д.Мяделец

*Витебский филиал НИКИ РМ и Э,
Витебский государственный медицинский институт,
Бел ГИУВ (Витебск, Минск, Беларусь)
НИИ Э и М РАМН им.Н.Ф.Гамалеи (Москва, Россия)*

В настоящее время трансплантация костного мозга (ТКМ) широко применяется при различных злокачественных заболеваниях, когда степень угнетения КМ в ответ на лечение является основным лимитирующим фактором для продолжения терапии. Однако применение такого высокоэффективного метода, как ТКМ ограничено из-за трудности регулирования разнонаправленных иммунологических конфликтов, возникающих после пересадки (Е.Д.Томас, 1998).

При разработке техники выполнения операции пересадки костного мозга с направленным введением пролонгированной формы цитостатика адриамицина преследовалась цель повышения целенаправленности его действия.

В серии опытов по изучению эффекта депонирования, меченых ^{59}Fe микросфер (Ms) с помощью ПМП, проведенной на 20-ти кроликах, было установлено, что применение магнитного поля достоверно ($p < 0,05$) повышает процент депонирования разработанной лекарственной формы в области трансплантации (группа № 1) в различные сроки наблюдений по сравнению с группой № 2, где ПМП не применялось, а выведение из области пересадки костного мозга микросфер в этом случае происходит достоверно ($p < 0,01$) медленнее (40%) чем в контрольной группе № 1 (60%).

При изучении возможности депонирования Ms с помощью предложенного способа в трубчатой кости у мышей была разработана подобная техника операции с использованием ПМП меньшей индукции (0,18 Тл) и помещением животного после введения донорских клеток с Ms в камеру установки для намагничивания магнитов. Были выделены 4 группы, в каждой из которых результаты снимались через 1 и 24 часа после введе-

ния радиоизотопномеченных Fe-59 микросфер, для изучения динамики их выхода из области трансплантации.

Установлено, что при введении Ms в смеси с донорскими клетками разработанным способом (группа № 4) удается депонировать в области трансплантации до $54,2\% \pm 1,5$ Ms в течение 1 часа после операции, тогда как при введении Ms без донорских клеток эффект депонирования составляет всего $11,4\% \pm 1,1$. Результаты дисперсионного анализа этих двух групп говорят о сильном влиянии ($h_A^2 = 0,83$; $p < 0,01$) фактора введения донорских клеток в суспензию Ms на эффект депонирования последних в области пересадки. Вероятнее всего это объясняется явлением неспецифической абсорбции микросфер на вводимых клетках, так как по литературным данным практически все пролонгированные магниточувствительные формы препаратов обладают данными свойствами (L.Illum, 1989 [TA \s ". Illum L. A drag composition with microspheres and process for its preparation // International application published under the patent cooperation treaty (PCT). 1989. WO89/0320. P. 3-7."]).

Результаты статистического анализа не выявили достоверного влияния применения ПМП на эффективность депонирования радиоизотопномеченных Ms в области пересадки костного мозга через 1 час после их введения. Однако, изучение динамики выведения Ms из созданного депо показало, что через сутки после операции с применением ПМП (группа № 4) в области трансплантации сохраняется достоверно большее количество микросфер $28,1\% \pm 0,7$ ($p < 0,01$) по сравнению с группой № 3, где операция производилась без применения ПМП. Данное влияние ПМП на динамику выхода Ms из бедренной кости вероятно объясняется индуцированием ПМП магнитного момента у микросфер и ориентацией их по силовым линиям ПМП, приводящей к адгезии Ms между собой, что затрудняет попадание образовавшихся конгломератов в капилляры, а, следовательно, и рециркуляцию их из созданного депо. Изучение внутривенного введения меченых Ms в смеси с донорским костным мозгом показало, что лишь незначительная их часть попадает в область кроветворения - бедренную кость $1,0\% \pm 0,1$, тогда как основная часть вводимой аликвоты задерживается в таких мощных гемациркуляторных барьерах, как легкие и печень $86,8\% \pm 1,7$. В опытной группе № 4 этот показатель через 1 час после операции был всего лишь $29,6\% \pm 1,0$ и $65,1\% \pm 1,1$ через 24 часа. Это говорит о невозможности целенаправленного транспорта синтезированной магниточувствительной лекарственной формы адриамицина при внутривенном способе введения, что согласуется с данными литературы. Полученные результаты позволяют заключить, что разработанная операция ТКМ позволяет создать депо пролонгированной магниточувствительной лекарственной формы (Ms) в области ее введения, причем использование ПМП позволяет пролонгировать эффект депонирования Ms, тогда как при системном введении основная их часть задерживается в печени и легких. Таким образом, разработанная операция ТКМ с депонированием пролонгированной формы цитостатика позволяет увеличить время выхода

микросфер из области трансплантации как при введении их в губчатую кость-грудину (кролики), так и при введении в бедренную кость.

Серия экспериментов по изучению эффекта депонирования донорских клеток в области грудины, выполненная на 30-ти кроликах, показала, что наибольший процент ($54,1 \pm 1,75$) удержания донорских клеток в грудине реципиента наблюдается при введении клеток в смеси с микросферами (группа № 2). Достоверная разница ($p < 0,01$) по сравнению с контрольным внутрикостным введением (группа № 1) наблюдалась и в случае применения ПМП (группа № 3), несмотря на меньшую выраженность эффекта депонирования ($p < 0,01$) в группе с опытом, где магнитное поле не применялось (группа № 2). Последнее, вероятно, обусловлено стимулирующим действием примененных параметров ПМП на рециркуляцию ретикулоцитов костного мозга. С.А.Гребенниковым с соавт. (1984) [ТА № 5 "Гребенников С.А., Павлов А.Д. Зависимость реакции эритрона от напряженности и длительности воздействия постоянного магнитного поля // Пат. Физиология и эксперим. терапия. 1984. № 6. - С. 72-75."], исследуя зависимость реакции эритрона от напряженности и длительности воздействия ПМП, как фактора противорадиационной защиты, показали, что ПМП вызывает стимуляцию пролиферативных и биосинтетических процессов в эритроидных клетках костного мозга. Анализ этих данных по изменению абсолютного количества ретикулоцитов в периферической крови при воздействии ПМП показал, что ПМП напряженностью 100 и 300 мТл при длительности воздействия 3 и 24 часа вызывает однотипную реакцию эритрона в виде перемещения ретикулоцитов костного мозга в периферическую кровь через 1 час и стимуляцию эритропоэза через 72 часа. При этом перемещение ретикулоцитов костного мозга в периферическую циркуляцию и связанное с ним снижение общей эритроидной клеточности КМ количественно не зависит от напряженности и длительности воздействия ПМП. Нами этот факт расценивается как положительный, поскольку, таким образом воздействие ПМП «выводит» красные клетки-предшественники в ранние сроки из-под митостатического «удара» и повышает целенаправленность способа в плане элиминации ИКК. Наши данные по изучению динамики выхода донорских клеток из области пересадки выявили, что несмотря на достоверное ($p < 0,01$) ее превосходство в опытных группах № 2 и № 3 по сравнению с контролем (группа № 1) через 36 часов после операции в этих группах, однако, остается достоверно большее количество донорских клеток в оперированной кости ($p < 0,05$).

Изучение эффекта депонирования донорских клеток костного мозга в области трансплантации (бедренная кость) у облученных в дозе LD100/20 реципиентов выявило, что через 1 час после внутрикостного введения суспензии клеток с микросферами (группа № 3; в/к 1×10^6 клеток с Ms) в области пересадки депонируется $49,2\% \pm 1,3$ пересаженных донорских клеток, причем воздействие ПМП в данном опыте (группа № 4; в/к 1×10^6 клеток с Ms+ПМП) не влияло на этот показатель, так как сравнение групп № 3 и № 4 в разные сроки наблюдений не выявило достоверной разницы между ними ($p > 0,05$).

Дисперсионный анализ групп № 3, № 4 с контрольной группой № 2 (в/к 1×10^6 клеток), в которой клетки вводились внутрикостно без микросфер, выявил выраженное влияние фактора введения микросфер в трансплантат ($h^2_A = 0,80-0,88$, $p < 0,01$) на эффект депонирования донорских клеток в области пересадки. Это, вероятно, объясняется также явлением неспецифической абсорбции микросфер на донорских клетках и образованием конгломератов, состоящих из клеток и микросфер, что детально было описано выше. Сравнение внутривенного, внутрикостного и разработанного способов пересадки костного мозга выявило, что наибольший процент удержания донорских клеток в области пересадки (44,2 - 49,2%) наблюдается при предложенном способе введения трансплантата в смеси с микросферами, достоверно меньший эффект наблюдался при внутрикостной пересадке $21,3\% \pm 0,6$ ($p < 0,01$); совсем незначительная часть вводимой аликвоты донорских клеток попадает в бедренную кость реципиента при традиционной внутривенной инфузии (3,9%). Эти результаты коррелировали (обратная связь) с данными по рециркуляции клеток в легкие и печень при различных способах пересадки костного мозга ($h^2_B = 0,66$; $p < 0,01$). Результаты по изучению длительности удержания клеток донорского костного мозга в области пересадки выявили, что через 24 часа в общий кровоток рециркулирует около 50% депонированных в течение первого часа донорских клеток, при чем применение ГМП не оказывает влияния на этот процесс (группы № 3 и № 4 $p > 0,05$).

Однако, и в данный срок наблюдений процентное содержание клеток донорского мозга в бедренной кости (22,5 - 26,7%) было достоверно выше в этих группах по сравнению с обычным внутрикостным ($12,3\% \pm 0,8$; $p < 0,01$) и тем более внутривенным введением ($6,4\% \pm 0,3$; $p < 0,01$).

Сам факт «расселения» донорских клеток костного мозга по организму облученного реципиента надо расценивать как положительный, так как в случае полного его отсутствия трансплантированные кроветворные клетки не смогли бы выполнить своей заместительной функции, которая играет основную роль при лечении аплазии костного мозга, возникающей после облучения. С другой стороны, довольно-таки выраженное удержание донорских клеток в области депонирования микросфер создает благоприятные условия для пролонгированной обработки *in vivo* иммунокомпетентных клеток адриамицином. С целью подтверждения этого положения было проведено изучение влияния разработанного способа пересадки костного мозга и самой пролонгированной формы цитостатика на течение послеоперационного периода в условиях индукции РТПХ.

Таким образом, разработанная операция пересадки костного мозга с депонированием микрокапсулированной формы цитостатика адриамицина позволяет не только осуществить депонирование препарата, но и существенно повысить процент удержания донорских клеток в области пересадки по сравнению с внутрикостной их инфузией, что создает условия для целенаправленной обработки лекарственными веществами донорских клеток в организме реципиента.