

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ РЕАКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА С ПОМОЩЬЮ ПРОЛОНГИРОВАННОЙ МАГНИТОЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ФОРМЫ АДРИАМИЦИНА

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

*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)*

При разработке способа пересадки костного мозга с направленным введением пролонгированной магниточувствительной формы цитостатика адриамицина (Adr) преследовалась цель одновременного решения задач: а) предотвращения основного послеоперационного осложнения (проявлений «вторичной болезни»); б) снижения общетоксического действия цитостатика; а также - в) повышения целенаправленности его действия.

При изучении влияния разработанной операции на течение послеоперационного периода применялась модель индукции реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) введением иммунокомпетентных клеток (ИКК) родительского штамма С57BL летально облученным (РУМ-17) реципиентам F1 (СВАхС57В1/6) (А.С.Шевелев, 1976) и исследование селезеночного индекса (СИ) (Р.В.Петров, 1989).

Исследования показали, что как внутривенная так и внутрикостная трансплантации одинаково «успешно» вызывают развитие острой РТПХ при введении равного количества ИКК высокоинбредной родительской линии С57BL облученным реципиентам (LD100/20), поскольку значения СИ и в этих группах было наиболее высоким - 1,5. Развилась к 10-м суткам и выраженная спленоmegалия у реципиентов, которым применялась трансплантация костного мозга с помощью разработанной операции без содержания в микросферах адриамицина ($СИ=1,67\pm0,1$). При морфологическом изучении лимфоузлов, селезенки, толстого кишечника и печени реципиентов данной группы были выявлены классические морфологические признаки острой РТПХ. Наименьшее значение СИ ($0,49\pm0,01$) при введении ИКК в смеси с клетками донорского костного мозга наблюдалось в опытной группе, где была применена доза Adr 1 мг/кг веса животного, включенного в микросферы (Ms). Такая резко выраженная аплазия селезенки реципиентов в данной группе говорит о том, что примененная дозировка цитостатика даже в пролонгированной форме оказывает не только выраженное лимфотическое действие, но и сильный митостатический эффект, отменяющий заместительную роль донорских клеток не только в селезенке, но и других органах, что подтверждают морфологические исследования печени, лимфоузлов и кишечника.

ка, в котором в данные сроки наблюдений отмечалась десквамация и некроз поверхностных участков крипт, отсутствие типичных бокаловидных клеток и замена их на крупные базофильные клетки. Совсем иная морфологическая картина наблюдалась в органах и тканях животных, которым пересадка костного мозга осуществлялась разработанным способом, но вводились микро-сферы с включением цитостатика в дозе 0,1 мг/кг веса реципиента. В данном случае не было выраженной аплазии кроветворных и лимфоидных органов, а значения СИ были близкими к единице ($1,03 \pm 0,01$), что говорит о выполнении донорскими кроветворными клетками их заместительной функции. С другой стороны, выраженное снижение СИ в этой группе по сравнению с контрольными группами ($p < 0,01$) указывает на то, что разработанный способ пересадки костного мозга с депонированием пролонгированной лекарственной формы адриамицина в дозе 0,1 мг/кг практически вызывает полную отмену острой РТПХ. Сравнение результатов данной группы с результатами групп, в которых применялось внутривенное введение донорских клеток с Ms, содержащими Adr соответственно в дозировках 0,1 и 1 мг/кг, подтвердило предположение о том, что только при разработанном способе пересадки костного мозга есть смысл применения данной формы цитостатика, так как в обеих группах значения СИ были достоверно выше ($p < 0,01$) и не отличались от таковых по сравнению с контрольными группами ($p > 0,05$). Последний факт объясняется, вероятно, тем, что по данным радиоизотопного исследования при внутривенном введении практически все микро-сферы с препаратом оседают в печени и легких, а так как донорские клетки костного мозга после внутривенного введения быстро рециркулируют из этих органов в кроветворные и лимфоидные органы и структуры, то практически не создается условий для обработки трансплантата цитостатиком *in vivo*. Подтверждает жизнеспособность предложенного способа и тот факт, что при введении коммерческой формы адриамицина в дозе 0,1 мг/кг значение СИ ($1,58 \pm 0,02$) достоверно выше ($p < 0,01$) по сравнению с опытной группой, где проводилось внутрикостное введение иммунокомпетентных клеток (ИКК) и микро-сфер с адриамицином в дозе 0,1 мг/кг. По результатам данной серии опытов было сделано заключение, что разработанный способ ТКМ с депонированием пролонгированной формы Adr позволяет при использовании малых доз (0,01 мг/кг) препарата оказывать выраженное ингибирующее действие на развитие основного послеоперационного осложнения, возникающего при операциях замещения системы кроветворения.

По данным теста на выживаемость вследствие развития РТПХ к 60-ым суткам исследований наблюдается достоверно больший процент гибели реципиентов в группах, где производилась традиционная в/в и в/к ТКМ (группы № 1 и № 2) по сравнению с опытной группой ($p < 0,05$), в которой использовался новый метод пересадки с депонированием пролонгированной формы Adr в дозе 0,1 мг/кг (группа № 4). Однако, в/в введение Ms с Adr в дозировке 0,1 мг/кг (группа № 6) и даже дозе 1 мг/кг (группа № 8) не вызвало подавления РТПХ, так как летальность реципиентов в них к 60-м суткам составила 100%.

Сравнительный анализ выживаемости реципиентов в группах № 4 и № 7 (в/к трансплантация клеток с Ms, содержащими Adr в дозе 0,1 мг/кг) показал, что несмотря на больший ($p < 0,05$) процент выживаемости реципиентов к 60-м суткам в группе № 4, основной причиной снижения выживаемости реципиентов в группе № 7 является гибель животных от облучения (до 20-х суток). Это говорит о возможности варьирования депо-дозой препарата в зависимости от дозы облучения реципиента, что особенно актуально при лечении злокачественных заболеваний системы кроветворения, когда органом-мишенью выступает пораженный КМ. Применение в последнем случае «супертерапевтических» доз цитостатиков в виде депо-форм вполне оправдано, так как за счет пролонгации выхода препарата из матричных структур Ms существенно снижаются его токсические свойства. Данные морфологических исследований подтвердили, что к 60-м суткам наблюдений в опытной группе № 4 не было резко выраженных явлений аплазии лимфоидных органов и структур, характерных для хронической формы РТПХ, тогда как у выживших реципиентов контрольной группы № 3 (в/к трансплантация с Ms) и группы № 5 (в/к трансплантация и в/в введение коммерческого Adr в дозе 0,1 мг/кг) подобные изменения имели место. В опытной группе № 4 к данным срокам наблюдений не отмечалось и внешних признаков вторичной болезни, таких как потеря массы тела, летаргия, сколиоз, взъерошивание шерсти с частичным облысением, тогда как у выживших животных контрольной группы № 3 к 60-м суткам наблюдений все эти признаки присутствовали. Такая высокая действенность разработанного способа ТКМ в плане предупреждения РТПХ с помощью малых доз депо-формы Adr вероятно объяснима механизмами короткодистантного взаимодействия с ИКК комплексов антрациклинов с полимерами, которые в данном случае могут эффективно реализовать цитостатические свойства не только за счет модификации внутриклеточного распределения лекарства.

Следовательно, разработанная модель ТКМ с депонированием Ms обладает существенными преимуществами по сравнению с традиционными методами пересадки, так как она позволяет с помощью субтерапевтических доз цитостатика предупредить развитие не только ранних, но и основных отдаленных послеоперационных осложнений, а также снижает системное токсическое действие Adr, позволяя варьировать его дозой без снижения эффективности действия за счет направленного транспорта. Еще одним аргументом в пользу применения разработанной операции именно в данном виде являются полученные буквально в последние годы результаты исследований по характеру репарации гемопоэза после цитостатического воздействия адриамицина, в которых установлено, что он наименее значительно из всех традиционных цитостатиков снижает клеточность костного мозга, что обусловлено ускоренным восстановлением структурно-функциональной организации КМ и секреторной активности элементов гемопоэзиндуцирующего микроокружения (А.М.Дыгай с соавт., 1995), которое при разработанном способе ТКМ, вероятно, реконструируется за счет донорских стромальных

клеток. Кроме того, разработанная операция ТКМ обладает практически неограниченными резервами к повышению ее эффективности за счет комбинационного включения в депо-формы различных лекарственных препаратов, например, эритропоетина и других индукторов роста и/или дифференцировки клеточных популяций костного мозга донора и реципиента.

Таким образом, использование методов определения выраженности митостатического действия при разработанном способе ТКМ позволяет осуществить подбор дозы препарата не снижающей эффективности заместительной функции донорских клеток. Основным преимуществом нового способа ТКМ является возможность предупреждения основных послеоперационных осложнений, возникающих после операций замещения системы кроветворения, с применением субтерапевтических доз препаратов заданного действия.