

Вплив трансплантації кісткового мозку на перебіг і кінець променевої хвороби

Є. Ю. Чеботарьов

Лабораторія біофізики Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця
Академії наук УРСР, Київ

При променевому ураженні будь-якого ступеня найбільш постійним і характерним симптомом є порушення функції кровотворних органів. Це порушення проявляється у розвитку лейкопенії внаслідок різкого зменшення кількості лімфоцитів і виникнення анемії. При патологоанатомічних дослідженнях тварин, що загинули від опромінення та його наслідків, незмінно виявляється ураження кровотворних органів — аплазія кісткового мозку і лімфоїдної тканини. Експериментально доведена пряма залежність ступеня ураження кровотворних органів від тяжкості променевої хвороби. В результаті загального опромінення експериментальних тварин дозами від 300 до 700 р смерть настає від недостатності функції кісткового мозку (при опромінюванні більшими дозами картина ускладнюється загибеллю клітин і ураженням центральної нервової системи).

Як відомо, в ослабленому опромінюванням організмі добре ростуть гомотрансплантати кісткового мозку. Це дало можливість намітити ще один шлях клінічного лікування променевого синдрому. Введені клітини приживають у місцях своєї нормальної локалізації і розмножуються, розташовуючись у кістковомозкових просторах. Функція кісткового мозку відновлюється при цьому протягом одного або кількох тижнів. Але якщо доза променевої енергії недостатньо знизила імунологічну реактивність реципієнта або пересаджений матеріал був надто чужорідним і несумісним, може статися реакція за типом анафілактичного шоку. Тому замість кісткового мозку дорослих деякі автори (Д. Алхоф та ін.) вводили гемопоетичні елементи незрілих зародків (печінка тощо), причому трансплантат добре приживав.

Останнім часом робляться спроби лікування пересадкою кісткового мозку хворих, яких піддають променевої терапії з приводу злоякісних новоутворень і лейкозів, а також осіб, що хворіють на анемію.

Н. Курнік взяв у чотирьох ракових хворих деяку кількість кісткового мозку і зберігав його при температурі -79°C . Коли під впливом рентгенівського опромінювання кількість кров'яних клітин у хворого знижувалась до небезпечно низького рівня, збережений на холоді власний кістковий мозок розморожували і вводили хворому. Протягом ряду тижнів після введення у хворого спостерігався бурхливий ріст нових клітин кісткового мозку і кількість кров'яних тілець в крові за період від чотирьох до шести тижнів повернулась майже до норми. Будь-яких побічних явищ у хворих не було.

Е. Томас, Г. Лохт і І. Ферребі наводять результати лікування шести хворих на лейкоз. Сприятливий ефект був одержаний тільки у двох випадках.

Ферребі наводить результати ефективного лікування введенням кісткового мозку двох дорослих хворих с гострою лейкемією й однієї семимісячної дитини.

І. Хембл і К. Ньютон пересадкою кісткового мозку лікували п'ятьох хворих (лімфогрануломатоз, алейкемічний лейкоз, апластична анемія і нейробластома). Покращання відзначено у двох хворих (апластична анемія і лімфатичний лейкоз). Автори брали донорський кістковий мозок за допомогою багаторазових пункцій гребінця клубової кістки у родичів з такою ж, як у хворого, групою крові.

Еритроцити донора мають бути сумісними із сироваткою крові хворого. Чотири частини кісткового мозку з'єднували з однією частиною стерильного кислотно-цитратного розчину декстрози і якомога скоріше вводили хворому. Автори вводили кістковий мозок у нижідну аорту шляхом введення зонда, в стегнову або променеву артерію або внутрішньо. Всім хворим до і після введення кісткового мозку вводили по 30 мг преднізону на день.

мозком. Кожній миші внутрішньо вводили приблизно $12 \cdot 10^6$ нормальних клітин мишачого кісткового мозку. При опроміненні дозою від 900 до 1300 *p* протягом 30 днів усі контрольні миші гинули. При введенні кісткового мозку після опромінення дозами 900, 1000 і 1100 *p*, через 30 днів були живі 100% тварин, а при застосуванні доз від 1200 до 1400 *p* виживало 40–50% мишей.

Внутрішня ін'єкція дає у мишей і морських свинок найкращі результати. Внутрішньочеревинний, внутрішньоплевральний і внутрішньоселезінковий методи введення значно менш ефективні, а внутрішньязовий і внутрішньокірний методи не ефективні. Ін'єкцію кісткового мозку у летально опромінені миші можна провести через три-чотири дні після опромінення.

І. Трентін вивчав вплив введення кісткового мозку від інших тварин. У опромінені миші, яким вводили кістковий мозок морських свинок або кроликів, на 21-й день спостерігалася 100%-на загибель, при цьому у них була різко виражена лейкопенія. Виражену захисну дію справляв кістковий мозок щурів і особливо мишей інших ліній або споріднених гібридів. Проте вона завжди була значно слабшою, ніж захисний ефект кісткового мозку, вводжуваного від тварин цієї самої лінії.

Макінодан, Такачі, Генгозян, Шекарчі вивчали вплив ін'єкцій клітин кісткового мозку і селезінки мишей, опроміненіх летальною дозою в 950 *p*. За 60 днів не загинула жодна з 22 мишей, яким після опромінення була зроблена ін'єкція кісткового мозку. В контролі за 13 днів загинули всі 93 миші. Із 24 мишей, яким була зроблена ін'єкція ядерних клітин селезінки мишей того самого виду, загинула тільки одна. При введенні після опромінення кісткового мозку мишей іншого виду за 60 днів загинули 34 миші з 51. При введенні клітин селезінки мишей іншого виду за 36 днів загинули всі 119 мишей.

Д. Алпхоф випробував вплив кісткового мозку, суспензії печінкової та селезінкової тканини зародка на мишей, опроміненіх дозою у 800 *p*. Через 30 днів в групі мишей, яким вводили кістковий мозок, виживання становило 60–90%, в групі мишей, яким вводили зародкову тканину печінки і селезінки, виживання дорівнювало 100%, а в контролі — 0,25%.

М. Браун, Б. Гірш та ін. встановили, що для досягнення необхідного лікувального ефекту досить ввести половину об'єму тканини кісткового мозку з одного стегна миші (9800 клітин в 1 мл^3 суспензії). Введення $1/16$ об'єму тканини кісткового мозку (1000 клітин в 1 мл^3) також давало лікувальний ефект, але більш слабкий. Автори встановили, що, крім кісткового мозку і селезінки, ембріональна печінка і гомогенати цільних ембріонів мають лікувальну дію.

П. Урсо і К. Конгдон випробували вплив восьми різних доз кісткового мозку на відновлення функції гемопоетичних органів, тривалість життя і вагу мишей, опроміненіх смертельною дозою в 900 *p*. Мишам вводили від $0,007 \cdot 10^6$ до $237 \cdot 10^6$ ядерних клітин. Миші, яким вводили мінімальну кількість клітин кісткового мозку, не доживали до 30-го дня. При введенні більших доз кісткового мозку всі миші доживали до 30-го дня. При дослідженні мишей було виявлено, що передусім відновлювався кістковий мозок. Вміст лейкоцитів у периферичній крові і вага селезінки швидко відновлювалися при введенні великих доз кісткового мозку.

Ряд авторів вивчав питання про умови збереження здатності нормального кісткового мозку відновлювати функціональний стан і діяльність кровотворних органів опроміненіх тварин.

Д. Біллен встановив, що найкращою умовою є зберігання клітин кісткового мозку в середовищі з високим вмістом гетерологічної сироватки (сироватка крові коня) при поповненні її через кожні 24 год. та інкубації при 25° . За цих умов строк збереження клітин кісткового мозку автору вдалося збільшити до 21 дня.

Л. Коль, І. Хейбермейер, П. Ноуелл повідомляють про 100%-не виживання опроміненіх мишей при ін'єкції їм кісткового мозку, взятого від мишей, які були вбиті на 19-й день після опромінення дозою 810–820 *p*. Якщо кістковий мозок брали через 14 днів після опромінення, значного ефекту не було встановлено. Автори застосували також ін'єкції кісткового мозку й антибіотиків для лікування мишей, опроміненіх надтоальною дозою рентгенівського проміння (1000–1100 *p*). Після введення кісткового мозку дві третини піддослідних тварин лишалися живими лише протягом восьми днів. Гістологічно була встановлена рання регенерація кісткового мозку. У тварин, які прожили після опромінення і введення кісткового мозку до 90 днів, вага тіла не досягала норми, незважаючи на регенерацію кісткового мозку, тоді як при дозі 810–820 *p* вага тіла відновлювалась до норми і навіть перевищувала її.

При введенні антибіотиків кількість тварин, що лишалися живими протягом перших восьми днів після опромінення, збільшувалась, але ранньої регенерації кісткового мозку не спостерігалось.

Багато дослідів по лікуванню променевої хвороби пересадкою кісткового мозку було проведено на щурах.

М. Фішер, Л. Коль, В. Бонд і В. Мілн провели досліді на щурах — самцях і самках віком від 6 до 19 тижнів і вагою 200–300 г, опроміненіх дозою 675–775 *p*. Після внутрішнього введення 50–100 мг кісткового мозку щурам, опроміненим дозою 700–

Т. Макінодан, Н. Генгозян, І. Шекарчі через два тижні після опромінення летальною дозою мишей, яким вводили щурячий кістковий мозок, спостерігали тенденцію до видужання від променевої хвороби. Але через три-чотири тижні спостерігалась тяжка реакція, яка досягала критичної величини через п'ять-шість тижнів. У цей час багато мишей загинуло. Автори пояснюють це тим, що летальне опромінення викликало тимчасове порушення імунних механізмів, внаслідок чого сталася трансплантація спорідненого, але все ж чужорідного кісткового мозку. Згодом, однак, почалось відновлення клітин, що продукують антитіла, і почалась реакція проти проліферуючих чужорідних трансплантатів.

Д. Ліндслі, Т. Оделл і Е. Тауше вводили щурам, опроміненим дозою 750—900 *p*, гомологічний кістковий мозок з імунологічною міткою. Автори виявили протягом двох-трьох тижнів мічені еритроцити. Кістковомозкові трансплантати зберігались і функціонували 147 днів. Трансплантований кістковий мозок дає периферичній крові понад 80% еритроцитів. У неопромінених тварин, яким вводили кістковий мозок, донорські еритроцити в крові не виявляються.

Г. Сантос, Л. Коль, Р. Роан вивчали вплив захисної дії щурячого кісткового мозку, введеного мишам разом з пеніциліном. При опроміненні мишей дозою 600—680 *p* таке лікування не позначалось на проценті виживання в порівнянні з мишами, яким вводили тільки пеніцилін. При опроміненні дозою 720—770 *p* збільшувався процент тварин, які дожили до 30-го дня, і підвищувалась загальна тривалість життя мишей у порівнянні з контролем. Щурячі гранулоцити в периферичній крові мишей, які виявляються гістохімічним методом лужною фосфатазою, живуть довше при більших дозах опромінення.

Спостереження Уохстейн і Гоморі показали, що після ін'єкції кістковомозкових клітин мишам, опроміненим дозою в 810 *p* позитивні на фосфатазу клітини виявлялись у мазках кісткового мозку вже через дві години. До сьомого дня кількість позитивних на фосфатазу клітин швидко збільшувалась. Через 14—28 днів, коли регенерація майже закінчувалась, в основному всі клітини давали позитивну реакцію на фосфатазу.

Мазки кісткового мозку мишей, яким вводили мишачий кістковий мозок, завжди давали негативну реакцію на фосфатазу в усіх стадіях регенерації. Ці дані вказують на те, що введені в організм мишей клітини щурячого кісткового мозку виживають, діляться і в кінцевому підсумку заселяють кістковомозкову порожнину.

Про сприятливу дію пересадки кісткового мозку після опромінення повідомляє К. Портер, який проводив свої досліди на кроликах — самцях, яким вводив у вену кістковий мозок самок. При дозі 800 *p* через три-чотири дні після ін'єкції у периферичній крові 15% опромінених кроликів були виявлені гетерофіли самок. Аналогічні явища спостерігались у 38% самців при дозі опромінення 900 *p* і у 62% самців при дозі 1000 *p*. Кількість гетерофілів у крові самців швидко збільшувалась, що приводило до відновлення нормального рівня лейкоцитів і навіть до його перевищення.

При введенні кісткового мозку відновлення лімфоїдної тканини відбувалось швидше, ніж у контролі. Смертність знижувалась з 92 до 54% (при дозі 900 *p*). Водночас при дозах опромінення 800 і 1000 *p* вплив кісткового мозку на процент виживання виявився незначним. Смертність при дозі 1000 *p*, незважаючи на введення кісткового мозку і відновлення кровотворної тканини, досягала 100%.

Як вважає автор, це було пов'язано з високою сприйнятливістю шлунково-кишкового тракту кроликів до впливу рентгенівського проміння.

В іншій серії дослідів К. Портер разом з І. Меррей вводив кістковий мозок опроміненим дозою 1100 *p* кроликам у комплексі з террамцином. У 65% тварин трансплантати приживали і функціонували, про що свідчила поява у периферичній крові нейтрофілів самок. З цієї кількості 15,5% кроликів загинули рано від виразки шлунка, у 19% трансплантати втратили життєздатність, 27% кроликів загинули через 33—40 днів від інфекції при функціонуючому трансплантаті, 38,5% кроликів були живі і в доброму стані з інтактним трансплантатом через 32 тижні.

У 30% кроликів трансплантат не прищепився, з них 16,8% загинули від перфорації виразки шлунка, 41,6% загинули від інфекції через 13—25 днів; у 41,6% кроликів була відзначена регенерація їх власного кісткового мозку.

Менш сприятливі результати дала пересадка кісткового мозку у собак. Так, Рекерсу не вдалося встановити захисної дії імплантації або ін'єкції кісткового мозку опроміненим собакам. Не виявлено також ознак росту донорського кісткового мозку.

На думку Е. Оллен і С. Баум, реін'єкція аутогенних клітин, тобто клітин, взятих у опромінюваної тварини перед опроміненням, має дати незаперечні докази функціонального значення імплантації кісткового мозку після опромінення.

Автори відразу ж після опромінення собак в дозі 400 *p* вводили їм у зовнішню яремну вену їх власний кістковий мозок. При цьому всі 8 піддослідних тварин лишилися живими. При введенні гомологічного кісткового мозку загинули шість собак із семи; при введенні фізіологічного розчину смертність досягала 100% (загинули всі чотири піддослідні тварини). В контролі загинули сім собак з восьми.

При опроміненні в дозі 600 р і введенні $1 \cdot 10^9$ клітин власного кісткового мозку загинули обидві піддослідні тварини, а при введенні $2 \cdot 10^9$ клітин власного кісткового мозку всі три собаки лишилися живими.

І. Р. Петров та І. В. Ільїнська застосовували внутрікісткове введення собакам, опроміненим дозою в 450 р, кісткового мозку разом з комплексним лікуванням, яке складалося із переливання крові, плазми з лейкоцитами і тромбоцитами, введення вітамінів, антибіотиків, димедролу, відновленого заліза, доброго харчування. Усі ці заходи знизили смертність тварин до 11,7% при 86% смертності в контролі.

К. А. Антонян, З. Х. Партев, А. А. Сафарян, М. А. Александрян, М. Н. Абовян, Е. Р. Пашинян застосовували ін'єкції свіжоконсервованого кісткового мозку у собак, опромінених дозою в 600 р. Лікування кістковим мозком починали в перші години після опромінення, а в деяких дослідах — через п'ять — сім днів після опромінення. Вводили кістковий мозок одноразово і багаторазово (по 5—8 трансфузій з інтервалом у три-чотири дні). Із 24 собак, яким провадили такі трансфузії, вижила 21 тварина. Всі контрольні собаки, яких не піддавали такому лікуванню, загинули.

Велика кількість досліджень, проведених в останні роки, дозволяє зробити висновки про високу ефективність ін'єкцій гомологічного і навіть гетерологічного кісткового мозку тваринам, опроміненим летальними дозами іонізуючої радіації. Проведені дослідження підкреслюють дуже важливе значення порушень кровотворення в патогенезі гострої променевої хвороби і свідчать про реальну можливість ефективного застосування ін'єкцій кісткового мозку для терапії променевих уражень.

ЛІТЕРАТУРА

- Антонян К. А., Партев З. Х., Сафарян А. А., Александрян М. А., Абовян М. Н., Пашинян Э. Р., Тез. докл. научн. конфер. по вопросам изыскания средств профилактики и лечения лучевой болезни, Л., 1960.
- Петров И. Р., Ильинская И. В., Патол. физиол. и экспер. терапия, № 5, 1959, с. 65.
- Стрелин Г. С., Шмидт Н. К., Тез. докл. «Восстановление радиационных поражений», М., 1962.
- Троицкий В. Л., Троицкий М. А., Фриденштейн А. Я., Тез. докл. научн. конфер. по вопросам изыскания средств профилактики и лечения лучевой болезни, Л., 1960.
- Alpen E. L. and Baum S. J., Blood, v. 13, Nr. 12, 1958, p. 1168.
- Billen D., Nature, 179, Nr. 4559, 1957, p. 574.
- Cole L. I., Habermeyer I. G., Nowell P. C., Amer. J. Physiol., 188, Nr. 3, 1957, p. 555.
- Congdon C. C., Blood, v. 12, Nr. 8, 1957, p. 746.
- Congdon C. C., Urso J. S., Amer. J. Pathol., v. 33, Nr. 4, 1957, p. 749.
- Fishler M. C., Cole L. J., Bond V. P., Milne W. K., Am. J. Physiol., v. 177, Nr. 2, 1954, p. 236.
- Gengorian N., Makinodan T., Cancer Res., 17, Nr. 10, 1957, p. 970.
- Gomori G., J. Cell. and Comp. Physiol., v. 17, 1941, p. 71.
- Jacobson L. O., Cancer Res., v. 12, Nr. 5, 1952, p. 315.
- Lindsley D. L., Odell T. T. and Tauscher F. J., Proc. Soc. Exptl. Biol. and med., 90, Nr. 2, 1955, p. 512—515.
- Lorenz E., J. Nat. Cancer Inst., v. 12, 1951, p. 197.
- Makinodan T., Gengozian N., Shekarchi I. C., J. Nat. Cancer Inst., 20, Nr. 3, 1958, p. 391.
- Nowell P. C., Cole L. J., Habermeyer J. C. and Roan P. Z., Cancer Res., v. 16, Nr. 3, 1956, p. 258.
- Odell T. T. and Caldwell B. C., J. Nat. Cancer Inst., v. 20, Nr. 4, 1958, p. 851.
- Porter K. A., Brit. J. Exptl. Pathol., 38, Nr. 4, 1957, p. 401.
- Porter K. A. and Murray J. E., J. Nat. Cancer Inst., v. 20, Nr. 1, 1958.
- Rekers P. E., Conlter M. P. and Warren S. L., Arch. Surgery, v. 60, Nr. 4, 1950, p. 635.
- Santos G. W., Cole L. J. and Roan P. L., Am. J. Physiol., v. 194, Nr. 1, 1958, p. 23.
- Swift M. N., Taketa S. T., Bond V. P., Radiation Res., 4, Nr. 3, 1956.
- Trentin J. J., Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med., 96, Nr. 1, 1957, p. 139.
- Uphoff D. E., J. Nat. Cancer Inst., 20, Nr. 3, 1958, p. 625.
- Makinodan T., Gengozian and Shekarshi J. C., J. Nat. Cancer Inst., v. 20, Nr. 3, 1958, p. 591.
- Urso J. S., Congdon C. C., J. Appl. Physiol., 10, Nr. 2, 1957, p. 314.
- Urso P. and Congdon C. C., Blood, v. 12, Nr. 3, 1957, p. 251.
- Wachstein M., J. Lab. and Clin. Med., v. 31, Nr. 1, 1946, p. 1.

Про методику вивчення в експерименті

Лабораторія фізіології кр...

Питання про можливість різних патологічних станах дав до цієї проблеми приводить до відомих тепер методів оцінки значення має метод визначення хвилинного об'єму серця (ХвО) експериментальне вивчення теоретичний і практичний інтерес во-судинної патології. В останні роки спрямовані на відшукування бар'єрів, необхідним для визначення мічних показників.

Голуба фарба Еванса (Т-сині, молекулярна вага якої — 99,7—100%) зв'язується білками і з білками. Одна молекула альбуміну — фарба повільно диссоціює з крові відбувається з приблизно як видалення альбуміну (Сріф, ми, 1960).

Ми вивчали зміни гемодинаміки при інфаркті міокарда у собак і кішок за принципом Гамільтона з спіном ми не знайшли детального опису ментальних досліджень.

Ми приготувляли 1%-ний розчин фарби Еванса на фізіологічному розчині і вмішували в ампули і стерилізовані крові тварини, центрифугували крові розведення фарби в плазмі від 1 до 10 мг на 1 л плазми колориметрували у фотоелектричному фільтрі при червоному фільтрі (600 мкм) в 5 мм кюветках. Відомі фарби і показання фотоелектричного показано на рис. 1, будували криву рини даного виду по десяти точкам має проходити через усі точки. Тварини брали 5—6 мл крові, виваням плазму додавали стандартні проби порівнювали колориметричною центральною на калібрувальній кривій будувати калібрувальну криву і таку криву з побудованою по даним кривій. Під морфійно-хлоралозним рини підшкірно, 70—80 мг хлоралозну препаратували стегнову артерію