

А. К. РЯБУХА, С. П. РЕЗВАЯ

К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ ПЕРЕСАДОК КРОВЕТВОРНЫХ ТКАНЕЙ ПРИ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЯХ

(Представлено академиком Е. М. Крепом 20 VI 1969)

Благодаря большому количеству экспериментальных работ и клинических наблюдений радиозащитный эффект пересадок гемопоэтических тканей в настоящее время не вызывает сомнений. Однако мнения исследователей относительно механизма этого эффекта расходятся, и вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

Так называемая гуморальная гипотеза предполагает, что клетки имплантированных кроветворных тканей содержат фактор, стимулирующий восстановление гемопоэза у облученных животных. Существованием такого рода фактора Джекобсон с соавторами (1) объясняли положительные результаты экранирования и пересадки гемопоэтических органов. Такую же интерпретацию своим наблюдениям давали Лоренц и др. (2) в опытах с введением суспензий костного мозга и Коул и др. (3), получившие лечебный эффект, применяя гомогенизированные кроветворные ткани. Однако позже, работами с использованием хромосомных маркеров при пересадке клеток костного мозга (4), гетеротрансплантации (5-7) и др., было неопровержимо доказано, что восстановление кроветворения может быть обусловлено расселением, приживлением, размножением и дифференцировкой клеток костного мозга донора в организме реципиента. Хотя этот механизм положительного влияния пересадок костного мозга и, по-видимому, экранирования костного мозга (8, 9) никто в настоящее время не отрицает, большинство авторов, вместе с тем, допускают и влияние гуморального фактора. В пользу его значения говорят и старые опыты (10-13) и более новые (14-16). В то же время соотношение между клеточным расселением и гуморальным влиянием остается недостаточно определенным.

Ставя перед собой задачу выяснения этих отношений, мы считали целесообразным ввести в организм кроветворные клетки, но исключить их расселение. При этом клетки донора должны были оставаться живыми и иметь условия для размножения. Последнему обстоятельству придавалось особое значение, ибо таким образом можно было анализировать не влияние продуктов распада, что делали и раньше, но и продуктов жизнедеятельности. Осуществить такие условия было возможно имплантируя диффузионные камеры, содержащие клетки костного мозга. Для избежания иммунных осложнений в камерах был использован аутологичный костный мозг.

Методика культивирования тканей в диффузионных камерах была введена Алгир с сотрудниками (17). Наши камеры состояли из двух колец из нейтрального органического стекла. Внутренний диаметр кольца 21 мм, наружный 25,5 мм, высота камеры 5 мм. К каждому кольцу приклеивали миллипорный фильтр с диаметром пор 0,45 м. Литературные данные показывают, что диффузионные камеры с диаметром пор 0,45 м непроницаемы для клеток (18-21). Однако в некоторых работах есть указания, что при использовании фильтров с таким диаметром пор возможны случаи проникновения клеток, что связывается с проницаемостью

пор (2) или с неудачным монтажом камер (19). Перед началом наших опытов мы провели проверку смонтированных камер на проницаемость клеток. С этой целью пустые диффузионные камеры с диаметром пор 0,45 μ и больше (0,9 μ) вводили внутривентриально крысам и через 8 суток обследовали на наличие клеток в камерах. Выяснилось, что камеры с диаметром пор 0,9 μ проницаемы для клеток, в камерах с фильтрами 0,45 μ клетки не обнаруживаются. Это позволило нам использовать камеры с диаметром пор 0,45 μ для последующих экспериментов.

Работа проведена на беспородных белых крысах-самцах весом 160—200 г. Перед облучением у всех животных производили экстирпацию большой берцовой кости, из которой затем извлекали костный мозг для трансплантации. Раневую поверхность закрывали хирургическим путем с соблюдением правил асептики. Кость в течение 4—5 час. хранили в закрытом бюксе с физиологическим раствором при температуре 4°.

Общее однократное облучение в дозах 500 и 600 р производили на аппарате РУМ-3 при напряжении 180 кв и силе тока 20 ма с фильтрами 0,5 мм Си и 1 мм Al; кожно-фокусное расстояние 40 см. Мощность дозы 36,8 р/мин.

После облучения в брюшную полость животных вводили диффузионные камеры с костным мозгом (подопытная группа) и без него (контрольная группа). Для этого делали разрез по заднеаксиллярной линии от 12-го ребра до гребешка подвздошной кости. Камеры перед погружением в брюшную полость обрабатывали пенициллином. Рану зашивали послойно. Операцию проводили под общим эфирным наркозом. Костный мозг для животных подопытной группы выдували из большеберцовой кости в диффузионные камеры при помощи шприца на 10 см³. В каждую диффузионную камеру вводили 20—25 млн живых ядросодержащих клеток. Этого достаточно для получения лечебного эффекта в условиях ауто трансплантации при внутривенных инъекциях (8). В течение всего срока наблюдения (21 день) животные находились в обычных условиях содержания и питания. Экстирпация большеберцовой кости и присутствие одной камеры в брюшной полости не отражалось существенно на поведении контрольных животных. Заживление раны происходило без осложнений.

В предварительных опытах выяснилось, что помещенные в диффузионные камеры клетки костного мозга, по крайней мере, в течение трех недель, т. е. в течение всего срока опыта, оставались живыми. Это касалось как миелоидных элементов костного мозга, так и стромы. И те, и другие клетки обнаруживали способность к размножению.

Лечебный эффект оценивали по уровню выживания животных.

С дозой 500 р было поставлено 4 повторных эксперимента. Всего было использовано 79 крыс, из которых 39 составляли подопытную группу и 40 — контрольную. Как видно из графика (рис. 1а, суммированные данные), введение костного мозга в диффузионных камерах обеспечивало выживание 41% животных к 21 дню наблюдения, в контрольной же группе к этому сроку выжило лишь 10% животных. Установленная разница ста-

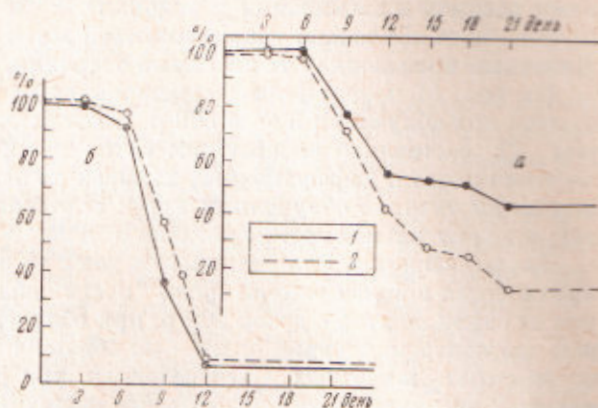


Рис. 1. Выживание крыс после облучения в дозе 500 р (а) и 600 р (б) и введения внутривентриально диффузионных камер. 1 — камеры с костным мозгом, 2 — пустые камеры.

гистически достоверна ($P < 0,002$). Постепенное расхождение кривых начинается с 6 суток после облучения, т. е. с того момента, когда начинается гибель животных из-за недостаточности кроветворных тканей. В связи с этим наблюдаемую разницу в ходе кривых выживаемости можно связать со стимуляцией репарационных процессов в кроветворных органах животных, получивших в диффузионных камерах костный мозг. Поскольку выход клеток из этих камер невозможен, стимуляция обеспечивается, по-видимому, продуктами жизнедеятельности введенного костного мозга.

В связи с данными С. Н. Александрова и К. Ф. Галковской⁽²³⁾ о некотором повышении выживания облученных мышей при нанесении им хирургической травмы следует обратить внимание на то, что наблюдаемая нами разница в выживании у подопытной и контрольной групп крыс не может быть объяснена травматизацией животных, так как контрольным животным производили те же самые операции, что и подопытным.

На рис. 16 представлены суммированные результаты трех повторных опытов при облучении в дозе 600 р. Было использовано 54 крысы, из которых 27 составляли подопытную группу и 27 — контрольную. Введение костного мозга в диффузионных камерах не оказало положительного влияния на выживание облученных крыс: основная масса животных и в опытной, и в контрольной группе погибла от 6 по 12 день.

Таким образом, при увеличении дозы до 600 р гибель животных осуществляется в более ранние сроки после облучения. Кроме того, в отличие от серии опытов с дозой 500 р, при облучении дозой 600 р мы ни в одной из повторных серий опытов не обнаружили повышения выживания подопытных животных. Следовательно, при дозе, еще не полностью летальной, при которой так называемые кишечные смерти еще не выявляются, продукты жизнедеятельности, поступающие из диффузионных камер, не могут вызвать повышения выживания животных, хотя экранирование костного мозга в таких условиях облучения спасает значительный процент животных от гибели⁽²⁴⁾. Можно допустить, что гуморальное влияние продуктов жизнедеятельности костномозговых клеток может ослабить аплазию, когда она не достигает еще высокой степени. В последнем случае клеточное расселение и приживание приобретает решающее значение.

Считаем своим приятным долгом выразить признательность Г. С. Стрелину за полезные консультации и интерес к данной работе.

Центральный научно-исследовательский
рентгено-радиологический институт
Ленинград

Поступило
3 VI 1966

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ L. O. Jacobson, E. L. Simmons et al., *Science*, **113**, 510 (1951). ² E. Lorenz, D. Uphoff et al., *J. Nat. Cancer Inst.*, **12**, 197 (1951). ³ L. J. Cole, M. C. Fisher et al., *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **80**, 1, 112 (1952). ⁴ C. E. Ford, P. L. T. Ilbery, J. F. Loutit, *J. Cell. and Comp. Physiol.*, **50**, Suppl., 109 (1957). ⁵ P. Nowel, L. Cole et al., *Cancer Res.*, **16**, 258 (1956). ⁶ L. H. Smith, T. Makinodan, C. C. Congdon, *Cancer Res.*, **17**, 5, 367 (1957). ⁷ O. Vos, J. A. G. David et al., *Acta physiol. et pharmacol. Neerl.*, **4**, 482 (1956). ⁸ Г. С. Стрелин, Н. К. Шмидт, А. К. Рябуха, *Радиобиология*, **2**, 4, 561 (1962). ⁹ Г. С. Стрелин, Н. К. Шмидт, *Мед. радиол.*, **7**, 10, 44 (1962). ¹⁰ Ю. Сошка, В кн.: *Радиобиология*, Изд. АН СССР, 1958, стр. 147. ¹¹ F. Ellinger, *Radiol. Clin.*, **23**, 4, 229 (1954). ¹² M. Hilfinger, J. Ferguson, P. Riemenschneider, *J. Lab. Clin. Med.*, **42**, 4, 581 (1953). ¹³ H. J. Thom, *Strahlentherapie*, **109**, 1, 47 (1959). ¹⁴ М. П. Богоявленская, Е. А. Зотиков и др., *Мед. радиол.*, **8**, 6, 63 (1963). ¹⁵ Э. И. Терентьева, И. И. Зарецкий и др., В кн.: *Современные проблемы гематологии и переливания крови*, М., 1964, стр. 401. ¹⁶ L. C. Ford, D. M. Donaldson, A. L. Allen, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **127**, 1, 286 (1958). ¹⁷ G. H. Algire, I. M. Weaver, R. T. Prehn, *J. Nat. Cancer Inst.*, **15**, 493 (1954). ¹⁸ J. M. Weaver, G. H. Algire, R. T. Prehn, *J. Nat. Cancer Inst.*, **15**, 1737 (1955). ¹⁹ J. D. Wakefield, B. Amos, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **2**, 4, 354 (1958). ²⁰ A. J. Friedenstein, I. I. Piatetzky-Shapiro, K. V. Petrakova, *J. Embriol. and Exp. Morphol.*, **16**, 3, 381 (1966). ²¹ K. Schneiberg, A. Jonecko, W. Bartnikowa, *Folia haematol. (DDR)*, **89**, 3, 265 (1968). ²² E. E. Capalbo, J. F. Albright, W. E. Benneth, *J. Immunol.*, **92**, 2, 243 (1964). ²³ С. Н. Александров, К. Ф. Галковская, *Вопросы онкологии*, **14**, 4, 79 (1968). ²⁴ Г. С. Стрелин, А. Д. Пушницина и др., *Мед. радиол.*, **13**, 4, 69 (1968).