

МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ПОРУШЕНЬ В ПРОЦЕСІ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ГІНЕКОЛОГІЧНИЙ РАК ЗА ДОПОМОГОЮ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КЛІТИН ЕМБРІОНАЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ

Гріневич Ю. А., Смикодуб О. І., Бендюг Г. Д., Храновська Н. М.,
Снігир Н. В., Іванкова В. С., Радзівська Л. В.

(Київ)

Вступ. Під час проведення поєднаної променевої терапії (ППТ) онкологічним хворим, зокрема хворим на рак шийки та тіла матки, нерідко доводиться робити вимушену перерву, пов'язану з виникненням ускладнень, таких як ентероколіти, лейкопенія, анемія та інші. Особливо часто це буває при використанні хіміопрепаратів-радіомодифікаторів. Відомо, що зниження інтенсивності терапії в значній мірі обумовлює погіршення результатів лікування хворих. Тому, пошук методів, направлених на корекцію таких ускладнень променевої терапії, що проводиться як в стандартних дозах, так і в більш інтенсивних, є досить актуальним для онкології. Одним з таких перспективних методів може розглядатися трансплантація клітин ембріональної печінки (КЕП), взятих на ранніх етапах розвитку ембріона. Між 6 і 24 тижнями гестації ембріональна печінка є органом кровотворення, тому містить в собі велику кількість клітин-попередників з високим проліферативним потенціалом. Внаслідок незначної експресії антигенів HLA на її поодиноких лімфоцитах ризик розвитку імунологічних конфліктів фактично виключається [1]. Але найбільш ефективними в плані підвищення протипухлинної резистентності організму є трансплантації клітин алогенного походження, що пов'язано з формуванням клітинно-опосередкованих імунних реакцій в організмі реципієнта.

Разом з тим, існують експериментальні дані про здатність КЕП відновлювати гемопоез та реконструювати лімфопоетичну систему у летально опромінених сингенних, алогенних та, навіть, ксеногенних тварин із виникненням стійких химер. Захисний ефект трансплантації КЕП в таких ситуаціях дорівнює майже 100% в порівнянні з 35-70% після трансплантації кісткового мозку [2]. Трансплантація алогенних КЕП ефективно використовувала-

ся у хворих на гострий лейкоз, які потребували пересадки кісткового мозку. Це сприяло відновленню кровотворення з установленим змішаним химеризмом після тотальної аплазії гемопоезу, викликаної опроміненням та циклофосфаном [1].

Припускається, що гемопоетичні ембріональні суспензії можуть не тільки поповнювати спустошені опроміненням "ніши" в кістковому мозку, але і через активацію цитокінової системи реципієнта сприяти відновленню функціонування власних гемопоетичних клітин [1]. Цей метод знайшов своє місце і в комплексному лікуванні хворих на солідні пухлини при стійких депресіях кровотворення [3, 4].

Матеріал та методи. Клінічні дослідження проведені у 32 жінок віком від 21 до 69 років: 28 хворих на рак шийки матки і 4 хворих на рак тіла матки, II - III ст, яким не можна було продовжувати протипухлинне лікування через ускладнення, які виникли під час проведення променевої терапії. В контрольну групу увійшли 30 хворих: 25 — на рак шийки матки та 5 — на рак тіла матки в такій же стадії розповсюдження процесу, у яких після першого етапу ППТ виникли гематологічні ускладнення. Всі випадки захворювання верифіковані гістологічно. Хворим проводили курс ППТ на фоні 5 — фторурацилу (3,5-5,0 г.) (в деяких випадках, по показанням, гіпертермії), яка передбачала 2 етапи: I — опромінення малого тазу РОД — 2 Гр до СОД — 30 Гр, II — одночасне дистанційне опромінення (до СОД — 55 Гр) та внутрішньопорожнинна g-терапія на апараті "АГАТ-ВУ" (до СОД 50-70 Гр).

КСП в об'ємі (2-4) мл внутрішньовенно вводили після 1-го етапу дистанційного опромінення чи на початку 2-го етапу опромінення (після 1 чи 2 укладок) або після закінчення повного курсу лікування. Для трансплантації використовували кріоконсервовані клітини, отримані з печінки одного ембріона терміном гестації 7-12 тижнів Центром ембріональних тканин "Emcell". Кожна клітинна суспензія перевірялась на наявність вірусних інфекцій та бактеріальну стерильність. В середньому, вводилось $(0,8-4,5) \times 10^8$ клітин, із них $(15,4-35,0) \times 10^6$ CD34⁺i $(2,0-14,4) \times 10^3$ бластних колонієутворюючих одиниць (КУОбл). Ефективність трансплантації оцінювали за впливом на гематологічні показники (рівень гемоглобіну, кількість еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів в периферійній крові). Дослідження проводили на 3, 7, 14, 21 добу та через 1,5 міс після введення КЕП. Імунофенотип лімфоцитів визначали за допомогою моноклональних антитіл фірми "Сорбент" (Росія). Функціональну активність нейтрофілів оцінювали за їх поглинальною здатністю, яка розраховувалася як середня кількість фагоцитованих клітиною бактерій *St. aureus*, штам 209,

інактивованих при 90° С протягом 1 год. Хворі контрольної групи отримували таке ж лікування, що і дослідної, за виключенням трансплантації КЕП.

Результат. За даними гемограм на момент трансфузії КЕП у 26 хворих спостерігалась лейкопенія — до $2,44 \pm 0,16 \times 10^9/\text{л}$ лейкоцитів та у 16 хворих — анемія (до $2,74 \pm 0,14 \times 10^{12}/\text{л}$ еритроцитів, $87,94 \pm 2,19 \text{г/л}$ гемоглобіну) (табл. 1 і 2). Анемія внаслідок дії опромінення розвивається рідше, ніж лейкопенія. У хворих на рак шийки матки вона може спостерігатись ще до початку терапії і частота її зростає із збільшенням ступеню розповсюдження пухлини (при III стадії — у 40%). Як показали результати спостережень, трансфузії КЕП не супроводжувалися розвитком будь-яких негативних реакцій. У хворих відмічалось покращання загального стану у вигляді зменшення слабкості, появи апетиту, у деяких зникли прояви післяпроменевого ентероколітів.

Таблиця 1

Вплив трансплантації КЕП на динаміку гематологічних показників хворих на рак шийки матки з лейкопенією

Момент обстеження	Лейкоцити $\times 10^9/\text{л}$	Нейтрофіли $\times 10^9/\text{л}$	Лімфоцити $\times 10^9/\text{л}$
До трансплантації КЕП	$2,44 \pm 0,16^x$	$1,62 \pm 0,09^x$	$0,48 \pm 0,04^x$
Після транспл. КЕП: 1 тиждень	$5,98 \pm 0,05^\circ$	$4,45 \pm 1,17^\circ$	$0,89 \pm 0,19$
2 тижні	$3,97 \pm 0,21^\circ$	$2,63 \pm 0,22^\circ$	$0,73 \pm 0,11^\circ$
3 тижні	$4,30 \pm 0,84^\circ$	$2,77 \pm 0,40^\circ$	$0,88 \pm 0,34$
через 1,5 місяці	$3,76 \pm 0,31^\circ$	$2,78 \pm 0,29^\circ$	$0,65 \pm 0,14$
Практично здорові люди:	$6,49 \pm 0,57$	$3,84 \pm 0,05$	$2,10 \pm 0,02$

Примітки:

1. x — різниця середніх величин в групах практично здорових і хворих людей статистично достовірна, $p < 0,05$;

2. $^\circ$ — різниця середніх величин до і після трансплантації статистично достовірна, $p < 0,05$.

В ранній термін після трансплантації у хворих спостерігалось деяке зменшення числа лейкоцитів, а у 14,3% пацієнтів на (3-7) добу — зсув у лейкоцитарній формулі вліво до поодиноких мієлоцитів чи метамієлоцитів. Позитивна динаміка числа лейкоцитів, ($p < 0,05$), еритроцитів та кількості гемоглобіну в периферійній крові відмічалась з 7 доби після трансплантації. Зміни в кількості

еритроцитів та гемоглобіну були суттєвими на 14 добу після трансплантації (табл. 1 та 2). Ці показники залишалися майже на одному рівні і в подальші терміни спостереження — навіть через 1,5 місяці після трансплантації, ($p < 0,05$). Хоча з початком наступного етапу лікування, який починали, в середньому, через 10 діб, значення дещо знижувалися.

Таблиця 2

Вплив трансплантації КЕП на динаміку гематологічних показників хворих на рак шийки матки з анемією

Момент обстеження	Еритроцити $\times 10^{12}/\text{л}$	Гемоглобін г/л
До трансплантації КЕП	$2,74 \pm 0,14^x$	$87,94 \pm 2,19^x$
Після транспл. КЕП:	33	
1 тиждень	$3,15 \pm 0,44$	$101,00 \pm 16,27$
2 тижні	$3,64 \pm 0,27^\circ$	$102,86 \pm 3,05^\circ$
3 тижні	$3,33 \pm 0,23$	$102,17 \pm 11,13$
через 1,5 місяці	$3,49 \pm 0,29$	$104,67 \pm 4,03^\circ$
Практично здорові люди:	$4,17 \pm 0,01$	$127,00 \pm 0,05$

Примітки:

1. x — різниця середніх величин в групах практично здорових і хворих людей статистично достовірна, $p < 0,05$;

2. $^\circ$ — різниця середніх величин до і після трансплантації статистично достовірна, $p < 0,05$.

В контрольній групі хворих, навпаки, спостерігалась тенденція до зниження кількості лейкоцитів протягом проведення етапів ППТ. Після першого етапу вона становила: на 7-му добу — $(2,89 \pm 0,12) \times 10^9/\text{л}$, на 11 — $(2,94 \pm 0,14) \times 10^9/\text{л}$, на 15 — $(2,93 \pm 0,12) \times 10^9/\text{л}$, на 30 — $(2,95 \pm 0,12) \times 10^9/\text{л}$. Після завершення курсу лікування у хворих цієї групи кількість лейкоцитів була меншою, ніж така в групі з трансплантацією КЕП ($(2,76 \pm 0,13) \times 10^9/\text{л}$ та $(3,28 \pm 0,13) \times 10^9/\text{л}$ відповідно, ($p < 0,05$).

Динаміка, подібна для загальної кількості лейкоцитів після трансплантації КЕП, спостерігалась і для їх субпопуляцій — нейтрофілів та лімфоцитів. Хоча, загалом, збільшення кількості лейкоцитів відбувалося за рахунок полінуклеарів, але воно не супроводжувалося підвищенням функціональної активності клітин. Так, поглинальна здатність нейтрофілів, дещо знижена після першого етапу ППТ до $10,31 \pm 0,81$ проти $11,29 \pm 1,00$ у практично здорових людей, продовжувала недостовірно знижуватися в динаміці спостереження після трансплантації і становила $9,84 \pm 0,92$ та $8,87 \pm 0,69$

на (3-7) добу та через 1,5 місяці відповідно. Це може обумовлюватися змінами стромальних кістковомозкових елементів у хворих внаслідок отриманого променевого лікування.

Загалом, трансплантація КЕП була ефективною у 70-80% хворих і впливала на показники тих ланок кровотворення, які найбільш постраждали внаслідок лікування. Нами не відмічено залежності між кількістю введених клітин та швидкістю репарації гемопоезу. Наприклад, для досягнення позитивного ефекту було достатньо введення $1,98 \times 10^8$ клітин (з них $17,6 \times 10^6$ CD34⁺ та $1,54 \times 10^3$ КУОбл). Кількість лейкоцитів на 1-шу добу після трансплантації зросла до $4,8 \times 10^9$ /л та через 2 тижні становила $3,8 \times 10^9$ /л порівняно з $2,7 \times 10^9$ /л до трансплантації. Введення більшої кількості клітин іншому реципієнту — $2,8 \times 10^8$ (з них 36×10^6 CD34⁺ та $14,4 \times 10^3$ КУОбл) через 2 тижні після трансплантації викликало збільшення числа лейкоцитів до $3,6 \times 10^9$ /л порівняно з $2,8 \times 10^9$ /л до трансплантації КЕП.

Таким чином, трансплантація КЕП, яку проводили в процесі протипухлинного лікування, чинить протекторну дію на стан кровотворення при продовженні променевої терапії і сприяє утриманню гематологічних показників на рівні, більшому, ніж до трансплантації. Це обумовлює можливість призначення подальших курсів променевого лікування.

Висновки. Трансплантація КЕП може використовуватись для лікування цитопенічних станів, обумовлених променевою терапією, завдяки позитивному впливу на гематологічні показники: на 7-му добу достовірно підвищує кількість лейкоцитів, а на 14-ту — еритроцитів та гемоглобіну. Протекторна дія триває більше 1,5 місяці, що дає змогу відновити перервані курси променевої терапії. Трансфузії КЕП поліпшують загальний стан хворих та сприяють кращій переносимості цитостатичного лікування. Результативність трансплантації не корелює з кількістю введених клітин, а залежить від вихідних гематологічних показників реципієнта.

ЛІТЕРАТУРА

1. Thomas D. B. The infusion of fetal liver cells. // Stem Cells. - 1993. - V. 11. - P. 66-71.
2. Touraine J. L., Roncarolo M. G., Vacchetta R., Raudrant D. Fetal liver transplantation: biology and clinical results. // Bone Marrow Transplantation. - 1993. - V. 11. - P. 119-122.
3. Бендюг Г. Д., Гріневич Ю. Я., Смикодуб О. І., Храновська Н. М., Глуховська І. Ю., Іванкова В. С., Радзієвська Л. В., Снігирь Н. В. Вплив трансплантації клітин ембріональної печінки на деякі показники, що характеризують стан імунної системи онкологічних хворих в динаміці

протипухлинного лікування. // Гематологія і переливання крові. - 1998. - Т. 29. - С. 214-220.

4. Білінський Б. Т., Логінський В. О., Савчик О. Б. Застосування кріоконсервованих гемопоетичних клітин ембріональної печінки людини при стійких депресіях кровотворення у онкологічних хворих. // Лікарська справа. - 1996. - N10-12. - С. 77-79.

МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ПОРУШЕНЬ В ПРОЦЕСІ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ГІНЕКОЛОГІЧНИЙ РАК ЗА ДОПОМОГОЮ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КЛІТИН ЕМБРІОНАЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ

Гріневич Ю. А., Смикодуб О. І., Бендюг Г. Д., Храновська Н. М.,
Снігирь Н. В., Іванкова В. С., Радзієвська Л. В.

*Ключові слова: трансплантація клітин
ембріональної печінки, променева терапія,
рак шийки та тіла матки, анемія,
лейкопенія.*

Хворим на гінекологічний рак II-III стадії з гематологічними ускладненнями (лейкопенія та анемія), що розвинулися внаслідок отриманого променевого лікування, трансплантували клітини ембріональної печінки (КЕП) 7-12 тижнів гестації. Позитивний вплив на кількісні показники периферійної крові реєстрували на 7-му добу після трансплантації у 70-80% хворих. Трансфузії КЕП супроводжувалися покращанням загального стану хворих і сприяли кращій переносимості цитостатичного лікування. Протекторна дія на гематологічні показники тривала 1,5 місяці, що обумовило можливість продовження перерваного курсу променевої терапії. Ефект трансплантації не корелював з кількістю введених клітин, а залежив від вихідних гематологічних показників реципієнта.

ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ПРОЦЕССЕ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИМ РАКОМ С ПОМОЩЬЮ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КЛЕТОК ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ.

Гріневич Ю. А., Смикодуб А. И., Бендюг Г. Д., Храновская Н. Н.,
Снігирь Н. В., Іванкова В. С., Радзієвская Л. В.

*Ключевые слова: трансплантація кліток
ембріональної печені, лучева терапія, рак
шейки и тіла матки, анемія, лейкопенія.*

Больным гинекологическим раком II-III стадии с гематологическими осложнениями (лейкопения и анемия), которые развились вследст-