

Исторические аспекты трансплантации аллогенного костного мозга

С. Г. Пушкарева

*Из материалов конференции
«Проблемы трансплантации костного мозга
и стволовых клеток периферической крови»*

История возникновения и развития трансплантации аллогенного костного мозга (ТКМ) на самом деле очень коротка, вся она укладывается в пределы жизни одного человека - 60 лет. Всего 30 лет прошло с момента первой в мире успешной ТКМ. И если представить, что в 40-е, 50-е годы нашего века об этом методе лечения не было известно почти ничего, а к 90-м годам тысячи больных оказались вылеченными от лейкозов, то можно только удивляться тому объему работы, который удалось выполнить за этот небольшой период времени.

Необходимо понимать и помнить, что некоторые очевидные в настоящее время факты и правила, известные сегодня каждому ординатору, потребовали для своей выработки и формулировки не только времени, но и упорства исследователей-экспериментаторов, смертей больных и колоссальной настойчивости и заинтересованности врачей, не останавливающихся перед повторяющимися и повторяющимися неудачами.

Период предварительных экспериментов

Удивительно, но первая попытка применить донорский костный мозг для лечения пациентов, больных лейкозами, была предпринята в прошлом столетии. В 1891 г. двое французских врачей Brown-Sequard и d'Arsonval давали таким больным человеческий костный мозг перорально [30].

Следующее упоминание подобного способа лечения встречается после почти пятидесятилетнего перерыва, но затем попытки его использовать возникают снова и снова. Так в 1937 г. Scriver и Zepf предложил внутримышечные инъекции свежееаспиринированного аутологичного или аллогенного костного мозга от случайных доноров больным анемиями [30]. В 1939 г. описаны внутривенное [28] и внутрикостное введение костномозговой взвеси [30]. А год спустя (в 1940 г.) в журнале JAMA Morrison и Samwack даже опубликовали наблюдение за больным апластической анемией, картина крови которого полностью нормализовалась после трех инъекций в грудину костного мозга от брата (общий объем 13 мл!). Эффект, по-видимому, не был связан с проведенной процедурой (?), но в то время подтверждал полезность изучения подобного способа лечения.

В середине 40-х годов Jean Bernard показал, что трансплантат костного мозга все же целесообразно вводить внутривенно, т.к. при внутрикостном введении его клетки все равно сразу вымываются в кровь. И в последующие годы проводились неоднократные попытки внутривенного переливания донорского костного мозга, но приживления трансплантата и образования «химеры» не достигалось. Причиной тому, по-видимому, являлась иммунологическая ее невозможность, некий генетический барьер, о существовании которого было известно, как оказывается, с древности. Не далее как в 1597 г. Caspate Tagliacozzi - анатом из Болоньи - после нескольких неудачных попыток реконструкций и трансплантаций носа заявлял: «...сила индивидуума велика, и если кто-либо полагает, что он способен изменить или улучшить что-либо в человеке против его природной индивидуальности, значит он плохо образован во врачебной науке».

До 1948 г. факторы, способные привести к супрессии иммунной системы реципиента, достаточной для приживления трансплантата, не были известны. Но быстро развивающаяся в это время радиационная биология установила, что одним из таких факторов может быть ионизирующая радиация. В апреле 1948 г. Leon Jacobson впервые показал, что введение стронция приводит к аплазии костного мозга у мышей [35]. А в 1951 г. Egon Lorenz продемонстрировал, что мыши, облученные в летальной дозе, могут пережить костномозговую аплазию, если им внутривенно инфузирова́ть сингенные костномозговые клетки [23]. Совсем непросто оказалось понять, что восстановление гемопоэза при полном разрушении его облучением возникает именно из трансплантированных клеток (первоначально предполагали, что в трансплантируемом материале имеется гуморальный фактор, стимулирующий гемопоэз). «...Когда на аутопсии мы рассматривали ткани мыши, получившей инъекцию костного мозга крысы, казалось невероятным, невозможным представить, что эта масса клеток, заполняющих кости и селезенку, практически целая кроветворная система, возникла из нескольких клеток крысы, введенных внутривенно» – писал в то время пионер этой работы С.С. Congdon [20]. На то, чтобы доказать это потребовалось 3 года.

К середине 50-х годов в эксперименте были обнаружены некоторые химические вещества, способные разрушать костный мозг подобно радиации. Ими оказались диметилмилеран [31] и циклофосфан в дозе 225 мг/кг [29].

Эти эксперименты предвещали первый период изучения ТКМ у человека.

Первый период изучения ТКМ у человека (1955-65гг.).

(технические проблемы забора, приготовления взвеси, инфузии костного мозга, методика предтрансплантационной иммуносупрессии, поддерживающая терапия при ТКМ, первые 400 ТКМ у человека)

Результаты исследований ТКМ у животных стимулировали интерес к этой проблеме клиницистов, занимающихся лечением гемобластозов. При лейкозах химиолучевая терапия вполне

могла оказаться эффективной, если бы пациенту удалось при помощи ТКМ пережить период постцитостатической аплазии кроветворения. Но, естественно, не было доказательств, что лечение, проводимое на животных, может быть применено у человека. Неясен был даже вопрос, можно ли перелить пациенту внутривенно без осложнений достаточное количество (400-600 мл!) костномозговой взвеси. Поэтому в течение 10 следующих лет наряду с продолжением исследований в лабораториях, ТКМ постепенно, но все более широко изучается в клинике. Будучи экспериментальным, этот метод лечения выполнялся главным образом у пациентов в терминальной стадии болезни.

Первая публикация по использованию ТКМ в клинике [32] появилась в 1957 г. (Томас E.D. et al.). В статье рассматривались технические подробности аспирации костного мозга из подвздошной кости донора, приготовление костномозговой взвеси, возможность ввести взвесь больному без эмболии легких. Делались попытки установить достаточную для приживания трансплантата дозу облучения реципиента. Впервые приживание трансплантата получено в 1959 г. Томасом с соавторами у двоих детей после тотального облучения в дозах 1140 и 850 рад и ТКМ от сингенных доноров. Оба ребенка вскоре погибли от рецидива лейкоза [33].

Клиническое использование ТКМ позволяло постепенно приобретать опыт и выработать правила проведения лечения, которые в настоящее время кажутся очевидными. Так, например, в 1959 г. Alice G. Beard описывает развитие мочекишечной нефропатии и смерти ребенка от тяжелых метаболических осложнений на фоне ОПН после облучения 700 рад и ТКМ от отца. Делается вывод о необходимости достаточного гидратирования больного и поддержания щелочной реакции мочи в период массивного распада клеток. Вопрос же о совместимости донора и реципиента автора пока не интересует и решается в этой статье одной фразой: «Теоретически, иммунологическое типирование не должно приниматься во внимание при выборе донора костного мозга для реципиента, подготовленного облучением» [18].

В 1965 г. Томас и Мате, отмечая, что некоторые «технические» проблемы ТКМ у человека решены, характеризуют общий десятилетний итог использования этого метода лечения в клинике как крайне неудовлетворяющий. К 1966 г. в литературе описаны 417 случаев аллогенных ТКМ, из них только в трех случаях трансплантат существовал длительно (19,25). Лишь 10% больных имели временное улучшение течения болезни, связанное с ТКМ. Большинство реципиентов умирали до появления признаков приживания костного мозга. В немногочисленных случаях приживания трансплантата у пациентов развивались тяжелые иммуноконфликтные осложнения, также приводившие к смерти. Эффективной ТКМ оказалась только при лечении больных апластической анемией, имевших сингенных доноров.

Второй период изучения ТКМ у человека (1965 - 1977гг).

(HLA-типирование, РТПХ, методика борьбы с ней, первые успешные аллогенные ТКМ, создание первого протокола ТКМ)

Новая «волна» интереса к ТКМ возникла с открытием законов гистосовместимости и возможностей тканевого типирования.

О существовании лейкоцитарных антигенов было известно с 1926 г. В 1958 г. Jean Dausset - один из основателей современной трансплантационной генетики - опубликовал классическую работу, в которой представил систему лейкоцитарных антигенов человека (H1A). Тем не менее, до середины 60-х годов иммунологическому подбору доноров для ТКМ не уделяли серьезного внимания, хотя проблемы иммунологической несовместимости донора и реципиента совершенно четко определились к этому моменту. В 1956 г. Barnes и Loulit [16] описали вторичную болезнь при ТКМ у животных, в 1961 г. Mathe [24] описал ее у человека. Им же чуть позднее наиболее полно представлены клиническая и патогистологическая картины острой вторичной болезни [26], высказано предположение о необходимости посттрансплантационной иммуносупрессии. В 1971 г. Mathe привел разочаровывающие результаты 24-х ТКМ от случайных доноров после подготовки больных тотальным облучением: приживление трансплантата зарегистрировано в 17 случаях, все больные имели РТПХ, 12 от нее погибли [27].

После середины 60-х годов HLA-типирование донора и реципиента было признано обязательным. В 1968 г. впервые осуществлена успешная трансплантация аллогенного костного мозга от HLA-идентичного сиблинга ребенку с врожденным иммунодефицитом [22].

Большинство иммунологических правил, используемых при ТКМ, были открыты и разработаны в опытах на мышах в период 1967-1972 гг. (van Bekkum, Trentin) и на собаках к 1972 г. (Thom, Storb). Опираясь на эти правила, группа врачей под руководством Томаса с 1969 г. по 1973 г. выполнила около 50 аллогенных ТКМ при апластической анемии и лейкозах, приблизительно каждый третий больной пережил год после операции, сохраняя функционирующий трансплантат.

Приобретенный опыт такого вида лечения и некоторые обнадеживающие его результаты послужили Томасу и его коллегам основанием для разработки первого протокола проведения ТКМ у больных лейкозами и апластической анемией.

Таким образом, к моменту разработки первого протокола ТКМ Томаса, т.е. к началу 70-х годов, были предварительно изучены и сформулированы методика достаточной иммуносупрессии реципиента для предупреждения отторжения трансплантата (тотальное облучение тела и циклофосфан), возможность безопасной внутривенной инфузии большого количества костномозговых клеток, необходимость использования в качестве доноров костного мозга подобранных по HLA сиблингов, методика дополнительной иммуносупрессии в течение 3-х месяцев после ТКМ для модификации течения РТПХ. Заявлена высокая

эффективность сингенной пересадки при апластической анемии. Высказано предположение, что трансплантат иммунологическими способами может разрушать резидуальные лейкозные клетки (17).

Третий (современный) период изучения ТКМ у человека.

В 1977 г. опубликованы результаты лечения первых 100 больных по новому протоколу, в 94 случаях зарегистрировано приживание трансплантата, 47 больных умерли в течение первых 100 дней, у 31 развился рецидив болезни. На момент завершения исследования были живы 17 пациентов, ремиссию сохраняли 13 (34). Как уже упоминалось, первые ТКМ осуществлялись пациентам в терминальной стадии болезни. И тем более замечательно, что именно на этих больных была убедительно доказана ее эффективность.

С тех пор началась современная эра ТКМ-метода, являющегося по своей сути антибиологическим и поэтому вносящего в лечение гемобластозов принципиально новые факторы воздействия на опухоль (супервысокие дозы цитостатиков и феномен «трансплантат против лейкоза»).

Поскольку основными причинами неуспеха лечения первых 100 больных по протоколу ТКМ оказались ранняя смертность и рецидивы гемобластозов, с конца 70-х годов в большинстве центров ТКМ начали выполнять в ремиссии, т.е. при минимальной опухолевой массе. Были разрешены, во многом, проблемы терапии выхаживания после ТКМ – усовершенствована антибиотическая и заместительная терапии, лечение РТПХ, CMV-пневмонии, веноокклюзионной болезни. С середины 80-х годов появились результаты ТКМ, проведенных больным в ремиссиях лейкозов. Результаты оказались очень обнадеживающими. С этого времени ТКМ стала быстро распространяться как метод лечения в гематологии, количество трансплантаций из года в год увеличивалось. К 1990 г. в мире было выполнено более 4000 трансплантаций аллогенного костного мозга [21].

В России интерес к исследованию и использованию костного мозга возник довольно давно. Еще в 1927 г. М.И. Аринкин разработал метод извлечения костного мозга через иглу, введенную в губчатую кость [6], а с 1938 г. им предпринимались попытки лечения больных анемиями внутримышечными и подкожными введениями костного мозга [1].

В 60-х годах в нескольких институтах гематологии России [1] использовали введение костномозговой взвеси от доноров при лечении пациентов с апластической анемией. Доноров подбирали по АВО-антигенам. Наиболее активно этим методом лечения пользовались в Кирове и Ленинграде. К 1967 г. в Ленинграде выполнено более 200 внутрикостных введений костного мозга, как правило, от неродственных доноров, а к 1976 г. проведено около 700 подобных процедур. С 1974 г. трансплантат костного мозга вводили внутривенно, клеточность его составляла $2-5 \times 10^6$

ядерных клеток. Хотя в кровотоке пациентов в некоторых случаях регистрировалась временная циркуляция нейтрофилов донорского кариотипа [9], тем не менее, достигнуть приживления трансплантата не удавалось даже при использовании HLA-идентичных доноров, поскольку цитостатической подготовки больные в то время не получали. При проведении лечения авторы рассчитывали на миелостимулирующее действие трансплантата.

Первая отечественная панель для HLA-типирования в России получена в 1972 г. в Ленинграде [1], а в 1975-78 гг. силами Московского и Ленинградского институтов гематологии создана служба HLA-типирования [4]. К 1996 г. в Российском регистре доноров костного мозга насчитывалось 11 тысяч человек [7].

Первая трансплантация аллогенного HLA-идентичного костного мозга после подготовки циклофосфаном 200 мг/кг была выполнена 2 января 1975 г. в клинике Института Биофизики [2]. Приживление трансплантата доказано образованием химеры (на 18 день от ТКМ 97% митозов в костном мозге больной имели донорский мужской кариотип). В 1979 и 1981 гг. [5] выполнены еще три ТКМ после подготовки циклофосфаном и тотальным облучением тела в дозе 1000 рад [36].

С середины 80-х годов в двух институтах Москвы ТКМ выполнялись довольно регулярно, хотя количество их было невелико. К 1992 г. в ГНЦ проведено 30 аллогенных ТКМ при лейкозах и апластической анемии [15], в клинике ИБФ - 38 аллогенных ТКМ у больных гемобластозами и 13 у пострадавших в аварии на ЧАЭС [3]. Первая, по-настоящему удачная ТКМ (пациентка не только перенесла ТКМ, но живет, сохраняя трансплантат и ремиссию лейкоза, 14 лет) проведена в 1985 г.

С начала 90-х годов в России увеличилось количество медицинских учреждений, использующих при лечении больных ТКМ. Трансплантации проводят как у взрослых, так и у детей. Активно занимаются этой работой Санкт-Петербургский центр трансплантации костного мозга и отделение миелотрансплантации НИИ онкологии им. Петрова, ГНЦ, РДКБ г. Москвы, в г. Минске [8,10,12,13, 14]. Всего к настоящему моменту выполнено более 200 аллогенных ТКМ.

Конечно, эта цифра невелика по сравнению с тысячами ТКМ, выполненных в мире, но, надеемся, это только начало. Как бы хорошо не была разработана и описана методика какого-либо вида лечения, для его успешного выполнения надо иметь свой опыт. Вначале всегда необходим человек или группа, **которые бы верили в целесообразность, полезность работы, которую они делают, заражали своим интересом окружающих, формировали увлеченный и выученный коллектив. Такие коллективы у нас появились.**

Литература:

1. Абдулкадыров К.М., Шебалин В.Н. Трансплантация костного мозга. Л.: Медицина, 1976.
2. Баранов А.Е. и др. Пробл. гематол. 1975, №12.
3. Баранов А.Е. и др. Гематол. и трансфузиол. 1989, №3.
4. Гаврилов О.К. и др. Пробл. гематол. 1981, №1.
5. Гаврилов О.К., Файнштейн Ф.Э. и др. Пробл. гематол. 1981, №4.
6. Журавлев В.А., Сведенцов Е.П., Сухоруков В.П. Трансфузиологические операции. М., 1985.
7. Зарецкая Ю.М. и др. Гематол. и трансфузиол. 1998, №1.
8. Зубаровская Л.С. и др. Тер. арх. 1998, №7.
9. Любимова Л.С., Порешина Л.П. Материалы симпозиума по эффективности трансплантации костного мозга в клинике, актуальным вопросам гематологии и трансфузиологии». Ташкент, 1973, с. 25-27.
10. Масчан А.А. и др. Гематол. и трансфузиол. 1997, №25.
11. Савченко ВТ. и др. Тер. арх. 1993, №7.
12. Уваров М.А. и др. Тер. арх. 1996, №7.
13. Усе. Гематол. и трансфузиол. 1997, №2.
14. Фрегатова Л.М. и др. Тер. арх. 1998, №7.
15. Шпакова А.П. и др. Гематол. и трансфузиол. 1993, №5.
16. Barnes D.W.H. Матиге. 1956, vol.177, p.452.
17. Barnes D.W.H., Loulit J.F. Nature. 1956, vol.177, p.452.
18. Barnes D.W., Loutit J.F. Brit. J. of Haematol. 1957, vol.3, p.241.
19. Beard A.G. et al. Acute leukaemia treated by irradiation and marrow transplantat. Pediat. 1959, vol.55.
20. Beilby J.O. et al. Brit. Med.J. 1960, vol.1, p.96.
21. Congdon C.C. Disturbing Our Settled Ways by New Inventions. Exp.Hemat. 1972, vol.22, p.29.
22. Ferrara J.L.M., Deeg H.J. Graft versus host disease. New. Engl. J. Med. 1991, vol.324, p.55.
23. Gatti R.A. et al. Lancet. 1968, vol.2, p.136.
24. Lorenz E. et al. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. J. Nat. Cancer Inst. 1955, vol.12, p.1023.
25. Mathe G. Illinois. 1961, p.38.
26. Mathe et al. Cancer Res. 1965, vol.25.
27. Mathe G. Bone marrow transplantation. Human Transplantation. Ed. F.T. Rappaport. J. Dausset. New York: Grune Stratton, 1968, p.284.
28. Mathe G. et al. Illinois. 1971, p.71.

29. Osgood E.E. et al. *Ann. intern. Med.* 1939, vol.13, p.353.
 30. Santos G.W. Effect of Syngeneic and Allogeneic Marrow Transfusions. Cydophosphamide-induced Lethality in the Rat. *Exptl. Hemat.* 1966, vol.10, N28.
 31. Santos W.G. History of bone marrow transplantation. *Clin.Haemat.* 1983, vol.12, N3.
 32. Talbot T.R., Elson L.A. Protection of August Rats against Lethal Doses of a Dirre. Homologue of Myeleran by Isologous Bone Marrow. *Nature.* 1958, vol.181, p.684.
 33. Thomas E.D. et al. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving rae and chemotherapy. *New. Engl. J. Med.* 1957, vol.257, p.491.
 34. Thomas E.D. et al. Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transctation in man. *J. Clin. Investig.* 1959, vol.34.
 35. Thomas E.D. et al. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation and allogenic bone marrow transplantation. *Ibid.* 1977, vol.49, p.511.
- 61 Annual Session's of American Association of Anatomists materials.