

А. И. ДЖАГИНЯН, Ф. В. БАЛЛЮЗЕК

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЛОГЕННЫХ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ
ЛЕЧЕНИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Проведенными исследованиями показано, что использование аллогенных лимфоцитов при лечении онкологических больных не вызывает клинических осложнений независимо от метода получения лимфовзвеси. Характер иммунных сдвигов у больных через одну-две недели после введения аллогенных лимфоцитов позволяет прогнозировать дальнейшее течение опухолевого процесса. Применение аллогенных лимфоцитов особенно эффективно у онкологических больных с «неполным» набором HLA-антигенов.

В последние годы у нас в стране и за рубежом ведется разработка методов иммунодиагностики и иммунотерапии злокачественных новообразований [1, 2, 4, 9, 10, 12]. Применение аллогенных лимфоцитов с целью иммунокорректирующего воздействия является одним из перспективных направлений в лечении онкологических больных. Однако ранее оценка эффективности подобных методов была затруднена из-за отсутствия надежных критериев [5, 6, 8, 11].

Нами проведено исследование и лечение 72 онкологических больных (II стадия—14, III—33, IV—25 человек). Из них 57 страдали злокачественной опухолью молочной железы, у остальных был диагностирован: рак толстой кишки, легких, меланобластома, саркомы скелета. Возраст обследованных больных—от 17 до 60 лет. Диагноз основывался на достоверных клинических признаках и данных гистологического исследования. Аллогенные донорские лимфоциты (совмещенные и несовмещенные по системе HLA) вводились как внутривенно, так и регионарно. В качестве иммунологического контроля за проводимым лечением использовались общепринятые методы: реакция спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана (Е-РОК) с определением «активных» и «тотальных» Т-лимфоцитов; оценка числа В-лимфоцитов при помощи «глобулиновых» (В_{гс}) и «комплементарных» (В_{сз}) розеток; определение функциональной активности лимфоцитов в реакции бласттрансформации с ФГА (РБТЛ); характеристика макрофагального звена—определением показателя макрофагальной трансформации мононуклеаров (ПМТМ) периферической крови [3]; исследование иммуноглобулинов крови—методом радиальной иммунодиффузии по Mancini; оценка состояния лимфоцитов-супрессоров [7]; определение действия блокирующих факторов сыворотки крови в РБТЛ и РТМЛ—реакции торможения миграции лейкоцитов; определение HLA фенотипов больных и здоровых доноров в реакции лимфоцитотоксичности. Иммунологический статус больных исследовался до и через 7—14 дней после введения им суспензии лимфоцитов. Через 2—3 месяца проводилось контрольное иммунологическое обследование. Больные наблюдались от 1 до 5 лет.

Суспензию лимфоцитов получали различными путями. В 14 наблюдениях применялось дренирование грудного лимфатического прото-

ка с последующей концентрацией клеток центрифугированием и ресуспендированием в растворе Хенкса (получили до 10 млрд. клеток). В 26 наблюдениях использована методика выделения лимфоцитарных фракций в пластиковых мешках при добавлении растворов желатины. В остальных 32 наблюдениях лимфофорез обеспечивали аспирацией граничного слоя плазмы после центрифугирования флакона свежей крови с консервантом. Режим центрифугирования—400 g в течение 15—20 минут. Процентное содержание лимфоцитов в суспензии составляло 90—95. Общая доза вводимых клеток, полученных вторым и третьим методом, составляла 1—2 млрд. Для стимуляции лимфоцитов использовали фитогемагглютинин фирмы «Difco» (из расчета 10 мкг/мл) и метотрексат фирмы «Lebegle» (из расчета 0,1 мкг на 10^6 клеток). Из 72 больных 65 человек (включая все локализации опухолей) получили предварительное хирургическое лечение, и только 7 человек с IV стадией болезни не оперированы.

Как показало исследование, применение суспензий аллогенных лимфоцитов в качестве адаптивной иммунотерапии повышало актуальность этапа хирургического удаления опухоли. Для получения положительных результатов большое значение имело даже паллиативное вмешательство, благодаря которому достигалось уменьшение общей массы опухолевых клеток, а соответственно—интенсивности негативного воздействия их на организм.

Больные легко переносили процедуру внутривенного и внутритканевого введения лимфоцитов, не предъявляли жалоб и в последующие дни. Осложнений, связанных с введением аллогенных лимфоцитов донора (независимо от степени совместимости по системе HLA с реципиентом), не наблюдалось.

Указанное лечение больных злокачественными новообразованиями сопровождалось сложными сдвигами в иммунологической реактивности. Достоверных различий в результатах применения лимфоцитов совмещенных и несовмещенных по системе HLA с реципиентом, выявить не удалось. В табл. 1 и 2 представлены наиболее типичные варианты динамики изменений иммунологических показателей больных через одну-две недели после введения лимфоидных клеток. Из таблиц видно, что сдвиги в различных звеньях иммунной системы больных были далеко не однозначными. Отмечены сложные комбинации изменения показателей иммунитета больных, которые трудно было сразу оценить. Картина существенно прояснилась при повторном наблюдении за больными через 2—3 месяца после введения лимфоцитов. Оказалось, что клинические признаки регрессии опухолевого процесса, стойкая ремиссия в подавляющем большинстве случаев коррелировали у больных с иммунными сдвигами, представленными в табл. 1. В отличие от этой группы отсутствие эффекта от проводимого лечения наблюдалось чаще среди больных, у которых иммунологические сдвиги через 7—14 дней после введения лимфоцитов были идентичны или схожи с вариантами, представленными в табл. 2. Положительным прогностическим признаком можно считать сочетание стойкого повышения уровня «активных» Т-лимфоцитов, усиление функциональной активности лимфоцитов в

РБТЛ, повышение в крови уровня JgM с одновременным снижением (или без изменения) уровня JgG, повышение (или без изменения) числа «комплементарных» В-лимфоцитов и ПМТМ, если это сопровождается вышеуказанными сдвигами и со снижением блокирующей активности сыворотки крови вместе с падением уровня лимфоцитов-супрессоров.

Прогностически неблагоприятными сдвигами оказались: снижение уровня «активных» Т-лимфоцитов при увеличении (или без изменения) числа «тотальных» Т-лимфоцитов, сочетающееся с повышением уровня В-лимфоцитов (особенно «глобулиновых» — V_{FC}), снижением уровня JgM и повышением JgG в сыворотке крови, уменьшением функциональной активности лимфоцитов; достоверность этого положения значительно возрастает при параллельном усилении действия блокирующего фактора сыворотки крови и повышении уровня лимфоцитов-супрессоров (табл. 2).

Таблица 1

Положительные иммунные сдвиги у больных после введения аллогенных лимфоцитов

Варианты иммун- ных сдвигов	Изменение иммунологических показателей										
	Т-лимфо- циты		В-лимфо- циты		РБТЛ	ПМТМ	имуноглобулины			блок. фактор сыворотки	лимф. супрес- соры
	Т-акт.	Т-тот.	ВFC	Всз			М	G	A		
I	+	+	-	±(-)	+	+(±)	+	-	+(±)	- (±)	-
II	+	+	+	+	+(±)	±(-)	+	+	+	-	±(-)
III	+	-	±	+	+	+(±)	+	±	+(±)	-	-
IV	+	-	-	-(+)	+	±	+	-	-	-	-

Примечание. +повышение уровня; —снижение уровня; $\pm$ без изменения.

Таблица 2

Негативные иммунные сдвиги у больных после введения аллогенных лимфоцитов

Варианты иммунных сдвигов	Изменение иммунологических показателей										
	Т-лимфоциты		В-лимфоциты		РБТЛ	ПМТМ	иммуноглобулины			блок. фактор сыворотки	лимф. супрессоры
	Т-акт.	Т-тот.	ВFC	Всз			М	Г	А		
I	—	—	+	+	—(±)	±(—)	—	+	—	+	+
II	—	+	+	—(±)	—(±)	±(—)	±	+	±	+	±(+)
III	—(±)	+(±)	±(—)	±(—)	±(—)	±(+)	—	—	—	+	+(±)
IV	±(—)	±	+	+	±(—)	+(±)	±(—)	+	±	+(±)	±

Примечание. +повышение уровня; —снижение уровня; $\pm$ без изменения.

Необходимо, однако, отметить, что по изменению отдельных иммунологических показателей трудно, а скорее невозможно объективно судить о происшедших сдвигах и прогнозировать течение болезни. Толь-

ко комплексный иммунологический контроль при помощи нескольких методов, оценивающих разные стороны иммунологической реактивности больного, позволяет получить полезную информацию.

Исследование HLA фенотипов онкологических больных показало, что по сравнению со здоровой группой у них достоверно чаще встречается неполный набор антигенов по локусам «А» и «В». Эта HLA-антигенная «дефицитность», как нам кажется, может быть обусловлена двумя причинами: гомозиготностью и антигенным упрощением типизируемых клеток. Однако независимо от причины обнаружения HLA-антигенной «дефицитности» у этих больных имело место стойкое снижение иммунологической реактивности, которое было труднее повысить или откорректировать другими доступными методами терапии. Применение аллогенных донорских лимфоцитов у этих больных оказалось особенно эффективным. При этом повторное типирование больных после введения аллогенных лимфоцитов показало, что в ряде случаев происходит кратковременное (до трех недель) изменение HLA-антигенного «паспорта» реципиента. У 11 больных были выявлены недостающие антигены в «некомплектном» HLA-фенотипе. Причем новый антиген в одних случаях был донорским (HLA-антигены доноров определялись заранее и использовались как маркеры), а в других—выявлялся ранее отсутствовавший антиген как у донора, так и у реципиента. В 7 случаях у больных с IV стадией развития опухолевого процесса (с метастазами) наблюдалось появление сверхкомплектных (лишних) антигенов HLA после трансфузии аллогенных лимфоцитов. Интересно, что отсутствовавшие ранее антигены выявлялись не только после внутривенного введения лимфоцитов, но и после внутритканевого (регионарного).

Как нам кажется, обнаружение у реципиентов в циркуляции лимфоцитов донора маловероятно (недостаточная концентрация донорских клеток, улавливаемых реакцией лимфоцитотоксичности, особенно введенных путем внутритканевой инъекции), но не исключено. Скорее здесь имеет место стимуляция лимфоцитов реципиента антигенными комплексами донора, появление бластных форм с новой информацией. Возможно, антигенная информация удерживается макрофагами в зоне введения лимфовзвеси, от которых она затем передается лимфоцитам-посредникам, организующим соответствующий клеточный иммунный ответ.

Эффективность применения лимфоцитов для лечения онкологических больных в значительной степени зависела от тяжести их клинического состояния и предшествующего лечения. Так, по результатам проведенного исследования можно констатировать, что наиболее благоприятные данные были получены в группе больных со II и III стадией болезни, со сниженной, но не подавленной исходной иммунологической реактивностью, которым ранее проводилось хирургическое лечение и последующая гипертермия—гипергликемия (независимо от локализации опухоли). Последняя, как уже нами было показано, кроме канцеротоксического действия, оказывает еще и иммунокорректирующее воздействие на организм больных. Отсутствие клинического эффекта от проводимого лечения наблюдалось в основном в группе больных с за-

пущенными формами опухолей, с резко угнетенной исходной иммуно-реактивностью, особенно если лечению предшествовали курсы химио-и лучевой терапии. Доза однократно вводимых клеток (об этом идет речь в статье) не оказывала существенного влияния на результаты лечения. Многократное же введение лимфоцитов (через каждые 2—3 месяца) давало длительный клинический и иммунологический эффект на протяжении многолетнего срока наблюдения.

Таким образом, для лечения онкологических больных применимы разные способы получения лимфовзвеси. Наиболее практичен метод аспирации праничного слоя плазмы после центрифугирования свежей крови с консервантом. Использование аллогенных лимфоцитов при лечении больных не вызывает клинических осложнений. Характер иммунных сдвигов у онкологических больных через одну—две недели после введения аллогенных лимфоцитов позволяет в определенной степени прогнозировать дальнейшее течение опухолевого процесса. Среди онкологических больных значительно чаще, чем у здоровых лиц, встречается «неполный» набор HLA-антигенов. Применение аллогенных лимфоцитов у этих больных особенно эффективно. Трансфузия лимфоцитов в ряде случаев сопровождается временным изменением HLA-антигенного «паспорта» реципиента. Предварительное хирургическое удаление опухоли с последующей гипертермией-гипергликемией существенно повышает эффективность использования лимфоцитов при лечении больных.

Ленинградский санитарно-гигиенический
медицинский институт

Поступила 5/VII 1983 г.

Ա. Ի. ԶԱԳԻՆՅԱՆ, Ֆ. Վ. ԲԱԼԼՅՈՒԶԵԿ

ԱԼՈԳԵՆԱՅԻՆ ԼԻՄՖՈՑԻՏՆԵՐԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ ՔԱՂՑԿԵՂՈՎ ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ԲՈՒԺՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Քաղցկեղով հիվանդների բուժման ընթացքում ալոգենային լիմֆոցիտների օգտագործումը, անկախ լիմֆոկախույթների ստացման մեթոդներից, կլինիկական բարդացում չի առաջացնում: Հիվանդների մոտ իմունային տեղաշարժը ալոգենային լիմֆոցիտների ներարկումից մեկ-երկու շաբաթ անց թույլ է տալիս կանխորոշել ուռուցքային պրոցեսի հետագա ընթացքը: Ալոգենային լիմֆոցիտների կիրառումը հատկապես արդյունավետ է «ոչ» լրիվ HLA անտիգենների հավաք ունեցող քաղցկեղով հիվանդների մոտ:

A. I. DZAGINYAN, F. V. BALLUZAK

THE USE OF ALLOGENIC LYMPHOCYTES IN TREATMENT OF ONCOLOGIC PATIENTS

The use of allogenic lymphocytes in the treatment of oncologic patients does not cause any clinical complications, no matter what method is used to obtain lymphatic suspension. The character of immune

shifts allows to make the prognosis of the further tumor development. The use of allogenic lymphocytes is especially effective in patients with „incomplete„ set of HLA antigens.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Баллюзек Ф. В., Печерский В. Н. Эксперим. хирургия и анестезиол., 1972, 5, стр. 3.
2. Говалло В. И. Иммуитет к трансплантатам и опухолям. Киев, 1977, стр. 385.
3. Джагинян А. И., Демченко Т. А. Вопр. онкол., т. 27, 1981, 6, стр. 32.
4. Трапезников Н. Н., Яворский В. В. Клин. мед., 1974, 5, стр. 15.
5. Cheema A. R.—Cancer Cytol., 1974, 14, 10.
6. Currie G. A.—Brit. J. Cancer, 1972, 26, 3, 141.
7. Dosch H. M., Gelfand E. W.—J. of Immunol., 1978, 121, 5, 2097.
8. Kaibara N., Ikeda T., Hattori T., Inokuchi K.—Gann., 1970, 61, 3, 227.
9. Klein E., Klein G.—Triangle, 1972, 11, 15.
10. Mathe G. Expansion Scientifique Francaise, 1976.
11. Morton D.L., Ellber T. R., Villiam L., et al. Ann. Surg., 1970, 172, 4, 740.
12. Thunold S. Spektrum, 1974, 17, 3, 37.

УДК 611—013

И. Х. ГЕВОРКЯН, Г. А. ЧУХАДЖЯН, С. М. МУРАДЯН, Т. Л. ОВСЕПЯН,
Н. Д. ГЗГЗЯН, С. А. КАРАПЕТЯН

УКРЕПЛЕНИЕ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ РОГОВИЦЫ ПРИ ЭКСТРАКОРНЕАЛЬНЫХ ОПЕРАЦИЯХ С ПОМОЩЬЮ ПОЛИМЕРНОГО КЛЕЯ «АРМЕН К-3»

Для фиксации трансплантата из эмбриональной роговицы при различных видах оперативного вмешательства на переднем отрезке глаза использовался клей «Армен К-3». Трансплантат фиксировался хорошо, оставался прозрачным до конца периода выздоровления. Отмечаются и другие преимущества бесшовного метода фиксации: значительное уменьшение пребывания больного в стационаре, хороший оптический эффект, быстрая медицинская реабилитация.

Бесшовное склеивание тканей при хирургических вмешательствах интересует клиницистов давно. С этой целью используется ряд синтетических материалов, которые в основном предназначаются для наружного употребления. В настоящее время наиболее широкое применение нашли пенополиуретановые клеящие пленки с акриловой массой между ними, однако применение их в хирургии ограничивается рядом недостатков. Во-первых, полиуретановые полимеры под действием ферментов в организме распадаются на токсические вещества, а во-вторых, пленка гидрофобна, не имеет сродства к влажным поверхностям, поэтому не может применяться для склеивания и покрытия внутренних органов.

Применение клеящего материала особенно ценно при пластических операциях на переднем отделе глазного яблока, т. к. фиксация трансплантата различными шовными материалами имеет целый ряд существенных недостатков.