

Эффективность колониестимулирующих факторов при лечении костномозгового синдрома острой лучевой болезни

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Резюме. В настоящее время одним из весьма эффективных средств лечения миелодепрессий различной этиологии являются колониестимулирующие факторы, относящиеся к классу цитокинов, которые уменьшают степень и продолжительность постлучевой миело- и иммунодепрессии. Их эффекты заключаются в значительном укорочении периода агранулоцитоза, уменьшении его выраженности, увеличении функциональной активности нейтрофилов, снижении тяжести инфекционных осложнений, приводя к повышению выживаемости экспериментальных животных, особенно если эти препараты применять в ранние сроки после облучения. Судя по имеющимся в литературе данным, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор является главным гемопозитическим фактором роста, который участвует в регуляции процессов пролиферации, дифференцировки и созревания миелоидных предшественников нейтрофильных гранулоцитов. Основываясь на опыте онкологов, гематологов, результатах терапии пострадавших в результате радиационных аварий, данных экспериментальных исследований, в настоящее время препараты цитокинового ряда, в том числе гранулоцитарные колониестимулирующие факторы, рассматриваются как основные средства ранней помощи при радиационно-индуцированной нейтропении и позволяют считать перспективным их использование в качестве средства ранней патогенетической терапии костномозгового синдрома острой лучевой болезни у человека. Терапию колониестимулирующими факторами рекомендуется начинать у всех пострадавших с острой лучевой болезнью как можно раньше с момента облучения и продолжать до момента, пока абсолютное число нейтрофилов в периферической крови не достигнет уровня более $1 \times 10^9/\text{л}$ после восстановления с момента максимальной нейтропении.

Ключевые слова: острая лучевая болезнь, костномозговой синдром, миелодепрессия лучевой этиологии, цитокины, колониестимулирующие факторы, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, агранулоцитоз, миелопоэз.

Одним из актуальных направлений, требующих оптимизации лечебных мероприятий при остром радиационном поражении (ОРП), является лечение костномозговой формы острой лучевой болезни (ОЛБ). Лимфогемопозитические ткани относятся к числу наиболее интенсивно реплицирующихся и самых радиочувствительных тканей млекопитающих. В результате воздействия ионизирующего излучения на костный мозг развивается панцитопения и сопутствующие ей осложнения: инфекции, кровотечения и плохое заживление ран, что в совокупности может приводить к летальному исходу [3].

В настоящее время одним из весьма эффективных средств лечения миелодепрессий различной этиологии являются цитокины, которые уменьшают степень и продолжительность постлучевой миело- и иммунодепрессии. К цитокинам, синтезирующимся в организме постоянно и участвующим в регуляции физиологических функций, относятся, в частности, колониестимулирующие факторы (КСФ), отвечающие за пролиферацию и дальнейшую дифференцировку стволовых кроветворных клеток. К ним относятся гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ), макрофагальный колониестимулирующий фактор (М-КСФ) и гранулоцитарно-макрофагальный

колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ). Все три цитокина были открыты как факторы, поддерживающие формирование миелоидных колоний в агаре клетками костного мозга. ГМ-КСФ отличается от Г-КСФ и М-КСФ меньшей специфичностью, стимулируя пролиферацию и дифференцировку клеток-предшественников как гранулоцитарного, так и моноцитарного ростков.

Судя по имеющимся в литературе данным, Г-КСФ является главным гемопозитическим фактором роста, который участвует в регуляции процессов пролиферации, дифференцировки и созревания миелоидных предшественников нейтрофильных гранулоцитов [4, 5, 8].

Введение Г-КСФ как интактным животным, так и здоровому человеку приводит к значительному увеличению количества лейкоцитов и нейтрофилов в периферической крови. Так, введение Г-КСФ интактным мышам на 4–10-е сут приводит к развитию в периферической крови картины лейкоцитоза преимущественно за счет увеличения числа палочко- и сегментоядерных нейтрофилов, достигая максимальных значений клеток белой крови к 5-м сут с момента начала инъекций препарата. Наряду с увеличением количества нейтрофильных гранулоцитов в перифе-

рической крови отмечается и рост числа лимфоцитов [4, 5]. При введении Г-КСФ здоровому человеку уже через 1,5–2 ч наблюдается увеличение количества лейкоцитов и нейтрофилов, которое достигает своего максимума через 24 ч. Данный рост количества нейтрофилов происходит преимущественно за счет выхода зрелых клеток из депо в кровяное русло. Курсовое же введение Г-КСФ проявляется значительным увеличением количества лейкоцитов и нейтрофилов в периферической крови [8]. В данном случае увеличение количества гранулоцитов происходит за счет сокращения времени созревания нейтрофилов.

Перспективным представляется лечение с помощью препаратов гемопоэтических ростовых факторов панцитопенического синдрома ОЛБ [6, 7, 13–15, 17]. До недавнего времени в нашей стране только одно вещество, относящееся к группе цитокинов, – бета-лейкин (рекомбинантный человеческий интерлейкин-1(β)), было включено в схему лечения миелодепрессий лучевой этиологии у человека на основании выраженного лечебного эффекта, показанного в эксперименте, и удовлетворительной переносимости в эффективных дозах человеком [7].

Как известно, ОЛБ является наиболее тяжелым вариантом радиационных поражений от внешнего облучения. Данная болезнь характеризуется совокупностью поражений многих органов и тканей и нарушением процессов физиологической репарации, что проявляется в формировании определенных синдромов. К числу основных радиационных синдромов относятся костномозговой, кишечный, токсемический и церебральный. Лечение в изначальном смысле этого слова, поддается только костномозговой синдром ОЛБ. При остальных синдромах ОЛБ терапия является по существу симптоматической, направленной главным образом на облегчение страданий больных [1, 3].

Судьба облученного организма при костномозговом синдроме ОЛБ определяется прежде всего длительностью панцитопении, которая, в свою очередь, зависит от скорости развития восстановительных процессов в кроветворной ткани. Следовательно, исход костномозговой формы ОЛБ в конечном счете определяется величиной сохранившейся после облучения части пула стволовых кроветворных клеток. Даже после общего облучения в дозе 10 Гр сохранившие жизнеспособность стволовые клетки способны в принципе обеспечить восстановление кроветворения. При этом восстановление числа функциональных клеток начинается через весьма длительный промежуток времени. Эффекты же гемопоэтических ростовых факторов, заключающиеся в значительном укорочении периода агранулоцитоза, уменьшении его выраженности, увеличении функциональной активности нейтрофилов, снижении тяжести инфекционных осложнений, дают возможность считать перспективным применение рекомбинантных форм Г-КСФ и ГМ-КСФ при костномозговом синдроме ОЛБ у человека.

Первое успешное использование гемопоэтических факторов роста при лечении ОЛБ приходится на

1986 г., когда у пострадавших при аварии на Чернобыльской АЭС был применен ГМ-КСФ. Цитокиновую терапию получали два пострадавших, облученных в дозах 10,2 и 8,7 Гр. Препарат вводили 1 раз в сутки в дозе 250 мкг/кг массы тела в течение 12 сут начиная с 38 сут после облучения. К 7–8-м сут после начала терапии ГМ-КСФ количество нейтрофилов в периферической крови повысилось с $0,5 \times 10^9/\text{л}$ до $2 \times 10^9/\text{л}$, а затем вновь снизилось до уровня $0,5 - 1 \times 10^9/\text{л}$, в связи с чем терапия КСФ была прекращена [2].

В 1987 г. положительный лечебный эффект ГМ-КСФ был отмечен у пострадавших при аварии в г. Гойянии (Бразилия) – в основном в случаях с тяжелой степенью ОЛБ (4–5 Гр). Из 8 пациентов, получавших терапию ГМ-КСФ, выжили 4. Двое пострадавших умерли от геморрагических осложнений, двое – от сепсиса, развившегося до начала приема КСФ. При этом на фоне цитокиновой терапии было зафиксировано укорочение сроков нейтропении и ускорение темпов восстановления клеток белой крови [11].

В 1989 г. КСФ были применены у пострадавших в результате радиационной аварии в Сан-Сальвадоре. Однако в начале введения препаратов через две недели после облучения данный опыт применения гемопоэтических факторов роста не позволил сделать определенных выводов об эффективности цитокиновой терапии при костномозговом синдроме ОЛБ.

В 1999 г. был получен положительный лечебный эффект от раннего применения Г-КСФ у жертв радиационной аварии в Токаи-Мура (Япония). В результате аварии большие дозы облучения получили три человека, в результате чего развилась острая лучевая болезнь. Все больные получали терапию Г-КСФ начиная с 1 сут после радиационного воздействия при продолжительности курса от 10 до 25 сут. Первым двум пациентам на фоне развившейся миелодепрессии также были проведены операции по трансплантации стволовых кроветворных клеток. На этом фоне у всех трех пациентов период агранулоцитоза был преодолен за счет быстрого подъема как донорских, так и собственных клеток костного мозга. Однако, несмотря на это, первые два пациента умерли от полиорганной недостаточности [16].

По данным регистра Radiation Emergency Assistance Center/Training Site, при использовании Г-КСФ и ГМ-КСФ у жертв радиационных аварий ускорение восстановления количества нейтрофилов было отмечено в 25 из 28 случаев. В большинстве случаев эти пострадавшие получали как Г-КСФ, так и ГМ-КСФ одновременно в течение длительного периода времени. Однако были значительные вариации во времени (часто отсроченное на недели после облучения) и способе введения КСФ. Некоторые больные также получали интерлейкин-3 [17].

В связи с тем, что острая лучевая болезнь является довольно редкой нозологической формой, большинство рекомендаций по тактике лечебного применения цитокинов при костномозговом синдроме вырабатываются на основании ретроспективного анализа историй

болезни пациентов с развившейся ОЛБ, подвергшихся облучению в результате техногенных катастроф, либо нарушений техники безопасности работы с ионизирующими излучениями, оценки эффективности применения КСФ при миелодепрессиях синдромосходных состояний, таких как миелодепрессии, вызванные миелотоксическим действием противоопухолевой терапии, лучевой терапией онкологических больных, а также данных экспериментальных исследований. Целесообразность использования КСФ в этом случае подтверждается следующими данными:

- ускорением под их влиянием восстановления количества нейтрофилов у онкологических больных;
- их явной пользой при применении у небольшого числа жертв радиационных аварий;
- и самое главное – преимуществом по критерию повышения выживаемости, выявленным в ряде экспериментальных исследований на облученных собаках и нечеловекообразных приматах.

В своих работах N. Dainiak [12, 13], основываясь на результатах экспериментальных исследований на крупных лабораторных животных и мнении ряда экспертов, рекомендует Г-КСФ в качестве препарата выбора в лечении костномозгового синдрома ОЛБ, возникшей в результате общего относительно равномерного облучения в дозе 3 Гр и выше, а также в дозе 2 Гр и выше при наличии механических травм и ожогов.

Терапию КСФ рекомендуется начинать всем пострадавшим ОЛБ как можно раньше с момента облучения и продолжать до момента, пока абсолютное число нейтрофилов в периферической крови не достигнет уровня более 1×10^9 /л после восстановления с момента максимальной нейтропении. Если после отмены препарата КСФ у больного наблюдается значительное снижение уровня нейтрофилов (менее $0,5 \times 10^9$ /л), рекомендуется повторный курс терапии цитокинами [3, 10, 14, 17].

Проведенные нами [6] экспериментальные исследования показали, что выживаемость леченых Г-КСФ мышей к 30 сут после облучения в дозе, близкой к минимальной абсолютно смертельной и вызывающей гибель 100% животных, составила 33%, а средняя продолжительность жизни возросла на 8 сут по сравнению с контролем.

Исследования, проведенные в опытах на крысах, показали, что введение цитокинов также увеличивало 30 сут выживаемость после облучения в дозе, близкой к минимальной абсолютно смертельной, на 40% по сравнению с группой контроля. В изученных дозах Г-КСФ существенным образом изменяет динамику количества лейкоцитов в периферической крови облученных животных. Так, количество лейкоцитов в периферической крови в период максимальной лейкопении у животных, получавших Г-КСФ, примерно в 2 раза превышало значение данного показателя в контроле. У леченых животных снижение количества миелокариоцитов было значительно (в 2–3 раза) менее выраженным, а период начала восстановления костномозгового кроветворения более ранним.

В нашем исследовании опыты на собаках проведены с применением Г-КСФ на фоне антибактериальной терапии. В настоящее время в радиобиологических исследованиях на крупных лабораторных животных при оценке эффективности новых противолучевых препаратов принято использовать как в контроле, так и в опыте средства поддерживающей терапии – антибиотика широкого спектра действия. В настоящих экспериментах в качестве такого средства использовали цефтриаксон.

В результате эксперимента установлено [9], что Г-КСФ способствует увеличению 45-суточной выживаемости животных, облученных в дозе $СД_{100/30}$, до 40%. У всех выживших собак отмечалось стойкое восстановление количества лейкоцитов и нейтрофилов в периферической крови. У пролеченных животных на 3-и сутки после облучения снижение количества лейкоцитов в периферической крови по сравнению с контролем практически отсутствовало, а к 10–14-м суткам данный показатель у собак, получавших препараты, в 2–3 раза превышал аналогичные значения у животных контрольной группы. Применение цитокинов также существенно улучшало динамику восстановления количества нейтрофилов и лимфоцитов в периферической крови облученных собак. На период максимальной лейкопении, которому соответствовали 14-е сутки после лучевого воздействия, у леченых животных количество нейтрофилов превышало значение данного показателя группы контроля более чем в 5 раз, а число лимфоцитов – в 3 раза.

У собак контрольной группы, подвергшихся облучению, за все время наблюдения отмечалось снижение числа миелокариоцитов, при этом во все сутки забора костного мозга их число было меньше, чем значение данного показателя у животных, получавших Г-КСФ. В то же время у пролеченных животных к 14-м суткам после облучения отмечался прирост количества миелокариоцитов, предшествовавший восстановлению числа клеток белой крови. Так, на 14-е сутки после лучевого воздействия число миелокариоцитов в костном мозге леченых животных превышало данный показатель группы контроля облучения более чем в 4 раза. У выживших к 20-м суткам после облучения собак отмечался резкий подъем количества миелокариоцитов, сопровождавшийся стремительной динамикой восстановления клеток белой крови.

Применение Г-КСФ не оказывало существенного влияния на динамику как количества тромбоцитов и эритроцитов в периферической крови, так и количества мегакариоцитов в костном мозге облученных животных.

Таким образом, основываясь на опыте онкологов, гематологов, результатах терапии пострадавших в результате радиационных аварий, данных экспериментальных исследований, в настоящее время препараты цитокинового ряда, в том числе гранулоцитарные колониестимулирующие факторы, рассматриваются как основные средства ранней помощи при радиационно-индуцированной нейтропении или аплазии

у пострадавших от аварийного облучения начиная с первых 24 ч после радиационного воздействия.

В целом, полученные нами данные [6, 9] согласуются с имеющимися в литературе результатами и показывают, что КСФ могут не только снизить радиационно-индуцированную нейтропению, но и сократить ее продолжительность, приводя к повышению выживаемости, особенно если эти препараты применять в ранние сроки после облучения, что позволяет считать перспективным их использование в качестве средства ранней патогенетической терапии костномозгового синдрома ОЛБ у человека. В то же время отсутствие положительного влияния данных препаратов на восстановление количества тромбоцитов и эритроцитов в периферической крови, мегакариоцитарного пула в костном мозге указывает на необходимость его сочетания с другими ростовыми факторами, действующими не только на гранулоцитопоз.

Литература

1. Аветисов, Г.М. Синдромы острой лучевой болезни. Клинические проявления, профилактика и лечение / Г.М. Аветисов [и др.] // М.: Всероссийский центр медицины катастроф «Защита». – 2003. – 244 с.
2. Баранов, А.Е. Диагностика, клиническая картина, лечение острой лучевой болезни у пострадавших на Чернобыльской атомной электростанции. Сообщение I. Костномозговые синдромы лучевых поражений и их лечение / А.Е. Баранов, А.В. Барабанова // Терапевтический архив. – 1989. – № 8. – С. 99–103.
3. Власенко, А.Н. Клиническая радиология: учебное пособие / А.Н. Власенко [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 224 с.
4. Гольдберг, Е.Г. Механизмы действия гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на гемопоэз / Е.Г. Гольдберг [и др.] // Бюлет. эксперимент. биологии и медицины. – 2005. – Прилож. 1. – С. 5–14.
5. Кетлинский, С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб.: Фолиант. – 2008. – 552 с.
6. Лебеза, В.И. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор лейкоцим – средство патогенетической терапии постлучевого костномозгового синдрома / В.И. Лебеза [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2010. – № 2 (30). – С. 135–139.
7. Лебеза, В.И. Цитокины как средства ранней патогенетической терапии радиационных поражений. Эффективность и механизм действия / В.И. Лебеза [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2000. – Т. 40, № 4. – С. 420–424.
8. Симбирцев, А.С. Цитокины: классификация и биологические функции / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Вып. 3, № 2. – С. 16–23.
9. Халимов, Ю.Ш. Экспериментальное изучение лечебного действия препарата гранулоцитарного колониестимулирующего фактора лейкоцима при миелодепрессии лучевой этиологии / Ю.Ш. Халимов [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2012. – № 2 (38). – С. 103–107.
10. Berger, M.E. Medical management of radiation injuries: current approaches / M.E. Berger [et al.] // Occupat. Medicine. – 2006. – Vol. 56. – P. 162–172.
11. Butturini, A. Use of recombinant granulocyte-macrophage colony stimulating factor in the Brazil radiation accident / A. Butturini [et al.] // Lancet. – 1988. – Vol. 2. – P. 471–475.
12. Dainiak, N. First global consensus for evidence-based management of the hematopoietic syndrome resulting from exposure to ionizing radiation / N. Dainiak [et al.] // Disaster Med. Public Health Prep. – 2011. – Vol. 5, № 3. – p. 202–212.
13. Dainiak, N. Rationale and recommendations for treatment of radiation injury with cytokines / N. Dainiak // Health Phys. – 2010. – Vol. 98, № 6. – P. 838–842.
14. Drouet, M. Radiation victim management and the haematologist in the future: time to revisit therapeutic guidelines? / M. Drouet, F. Hérodin // Int. J. Radiat. Biol. – 2010. – Vol. 86, № 8. – P. 636–648.
15. Hérodin, F. Revisiting therapeutic strategies in radiation casualties / F. Hérodin, N. Grenier, M. Drouet // Exp. Hematol. – 2007. – Vol. 35. – P. 28–33.
16. Iseki, T. The Critical Accident in Tokaimura: Med. Aspects of Radiat. Emergency / T. Iseki, H. Nagayama, J. Ooi // Proc. Int. Symp. – 2000. – P. 220–227.
17. Waselenko, J.K. Medical management of the acute radiation syndrome: recommendations of the Strategic National Stockpile Radiation Working Group / J.K. Waselenko, T.J. MacVittie, W.F. Blakely // Ann. Intern. Med. – 2004. – Vol. 140. – P. 1037–1051.

V.A. Pershko, Yu.Sh. Khalimov, S.V. Gayduk

Effectiveness of colony-stimulating factors in the treatment of bone marrow syndrome of acute radiation sickness

Abstract. Currently, one of the most effective agents for a treatment of myelodepressions of various etiologies are colony-stimulating factors related to a class of cytokines that reduce the extent and duration of post-radial myelo- and immunodepression. Their effects are in a significant shortening of a period of agranulocytosis, a decrease in its severity, an increase in the functional activity of neutrophils, a reduction in the severity of infectious complications, leading to an increase in the survival of experimental animals, especially if these drugs are used in the early periods after irradiation. Judging by the data available in the literature, the granulocyte colony-stimulating factor is the main hematopoietic growth factor, which is involved in the regulation of proliferation, differentiation and maturation of myeloid precursors of granulocytes. Based on the experience of oncologists, hematologists, the results of therapy for victims of radiation accidents, and experimental research data, cytokines, including granulocyte colony-stimulating factors, are regarded as the main means of early care for radiation-induced neutropenia and allow us to consider their use as means of early pathogenetic therapy of acute radiation sickness in humans. Therapy with colony-stimulating factors is recommended to begin for all victims with an acute radiation sickness as soon as possible from the moment of irradiation and continue until the absolute number of neutrophils in the peripheral blood reaches a level of more than $1 \cdot 10^9/l$ after recovery from the moment of maximum neutropenia.

Key words: acute radiation sickness, bone marrow syndrome, myelodepression of radiation etiology, cytokines, colony-stimulating factors, granulocyte colony-stimulating factor, agranulocytosis, myelopoiesis.

Контактный телефон: +8-921-381-68-64; e-mail: persh_v@mail.ru