

ЛЕЧЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННО ЛЕКАРСТВЕННО УСТОЙЧИВЫМ
ТУБЕРКУЛЕЗОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Скрягина Е. М.¹, Скрягин А. Е.², Исайкина Я. И.³, Солодовникова В.В.¹

¹ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии», ²УО «БГМУ»,

³ГУ «РНПЦ детской онкологии и гематологии»

Введение. Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) микобактерий туберкулеза – это устойчивость одновременно к двум основным наиболее эффективным противотуберкулезным препаратам (ПТП): рифампицину и изониазиду. Множественно лекарственно-устойчивый туберкулез (МЛУ-ТБ) характеризуется крайне неудовлетворительными результатами лечения и негативным влиянием на общую эпидемиологическую ситуацию по туберкулезу [1]. Оптимальные схемы лечения МЛУ-ТБ, основанные на контролируемых рандомизированных исследованиях и принципах доказательной медицины, до сих пор не разработаны. Результаты лечения МЛУ-ТБ характеризуются выраженной вариабельностью. Успех лечения варьирует в пределах от 22 до 68%, а смертность – от 4 до 37% [5, 6, 7, 8]. Кроме того, имеются сообщения о значительном количестве рецидивов заболевания после излечения МЛУ-ТБ [9, 10]. Таким образом, угрожающая проблема распространения и неудовлетворительные результаты лечения МЛУ-ТБ определили поиск новых подходов к проблеме. Помимо введения в режимы лечения новых ПТП и новых подходов к хирургическому лечению МЛУ-ТБ постоянно продолжается поиск эффективных методов воздействия на иммунологические и регенеративные процессы организма. Со времени первых попыток Роберта Коха модифицировать иммунную систему с целью ускорения излечения от туберкулеза, поиск эффективных патогенетических, иммуномодулирующих, регенеративных агентов постоянно продолжается. Одним из терапевтических подходов, привлекающих в настоящее время большое внимание, является цитотерапия, в частности, аутотрансплантация мезенхимальных стволовых клеток, обладающих иммунорегуляторными свойствами и способностью к тканевой пластике легких.

Аутологичная трансплантация (АТ) мезенхимальных стволовых клеток (МСК) восстанавливает популяцию стромальных клеток в различных органах, в том числе и в легких [2, 3]. Стромальные клетки являются источником цитокинов и ростовых факторов, которые участвуют в регуляции иммунного ответа, а также в развитии регенеративных процессов в поврежденной ткани легкого [4].

Целью данной работы было разработать и внедрить метод лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью с использованием аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток.

Материалы и методы. В исследование вошли пациенты с МЛУ-ТБ, диагноз у которых был подтвержден методом посева на плотной и/или жидкой питательной среде и тестированием лекарственной чувствительности (ТЛЧ) микобактерий туберкулеза (МБТ) к основным и резервным ПТП. На основании оценки данных клинического, рентгенологического, лабораторного, в т.ч. бактериологического (бактериоскопия мазков, культивирование МБТ, и тесты чувствительности к ПТП) обследования больных туберкулезом легких было проведено формирование групп исследования. Опытная группа, которой на фоне индивидуализированной химиотерапии, с учетом результатов теста на лекарственную чувствительность, провели забор костного мозга (КМ), процессинг и реинфузию аутологичных МСК, была представлена 12 пациентами, которые имели длительный (в течение не менее 6-ти месяцев) посттрансплантационный мониторинг клинических, микробиологических, иммунологических и рентгенологических показателей. Контрольная группа была представлена 24 пациентами со схожими данными, получившими только индивидуализированную химиотерапию (ИХТ) (таблица 1).

Таблица 1 - Характеристика пациентов, вошедших в исследование.

Группа п	Пол м/ж	Возраст (мес.)	Диагноз ТБ (мес.)	Кол-во курсов ХТ	Диагноз МЛУ-ТБ (мес.)	ЛУ к (кол-во ПТП)	Рентген Каверны /двустор. процесс/ ФКТ
Основная группа (12 чел.)	7/5	30 (24-42)	36 (5-108) *	3 (0-5)	16 (0-52) *	7 (3-10)	10/6/1
Контрольная группа (24 чел.)	18/6	34 (26-60)	24 (2-46) **	2 (0-5)	12 (0-42) **	6 (4-9)	20/9/2**

Примечания: ХТ – химиотерапия; ИХТ – индивидуализированная ХТ, МЛУ – множественная лекарственная устойчивость; ФКТ – фиброзно-кавернозный туберкулез.

* - до реинфузии МСК; ** - на момент начала последнего курса ИХТ

Пациентам проводили забор костного мозга в асептических условиях под местной анестезией. Из одного или нескольких проколов подвздошной кости (со стороны задней поверхности) аспирировали КМ. Аспират КМ помещали в 10 мл вакутайнеры с сухим гепарином. Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли из костного мозга методом деления клеток по градиенту плотности на Гистопаке 1,077 с последующей двукратной отмывкой отсепарированной фракции клеток в 0,9% растворе хлорида натрия.

Полученные МНК ресуспендировали в среде IMDM, содержащей 10% эмбриональную телячью сыворотку (ЭТС), 2 мМ/л L-глутамин и 10^{-4} М/л 2-меркаптоэтанола, и переносили в концентрации $2-3 \times 10^6$ /мл во флакон объемом 175 см². Клетки инкубировали при 37° в 5% CO₂. Через 48 часов производили смену среды, удаляя, таким образом, клетки, находящиеся в суспензии. При 80–90% покрытия поверхности флакона прикрепленными клетками, среду удаляли и клетки дезадгезировали с пластика добавлением 5 мл 0,25% трипсин-ЭДТА. Через 4-5 мин действие трипсина ингибировали с помощью ЭТС. Клетки отмывали в 0,9% растворе хлорида натрия и в количестве 1×10^6 пересаживали во флаконы 175 см² (I-ый пассаж). Таким образом, проводили 3 пассажа, при которых МСК наращивали *in vitro* до необходимого количества в зависимости от массы пациента. Клетки, снятые с поверхности культуральных флаконов последнего пассажа, дважды отмывали в физиологическом растворе, переносили в шприц в объеме 20 мл для последующей инфузии пациенту с МЛУ-ТБ. Перед инфузией пациенту клетки, наращенные *in vitro*, идентифицировали по наличию поверхностных маркеров CD105, CD90, CD44, характерных для МСК и отсутствию маркеров гемопоэтических клеток CD34, CD45, CD14, а также определяли жизнеспособность МСК.

Обязательным требованием являлось исследование МСК из каждого пассажа на стерильность по всему спектру возможной бактериальной и вирусной контаминации. Биотрансплантат МСК создавался для каждого пациента индивидуально. В среднем, срок культивирования мезенхимальных стволовых клеток составлял 27-30 дней, что позволяло МСК, выделенным из костного мозга человека, не только сохранять высокий пролиферативный потенциал, но и оставаться мультипотентными, т.е. способными развиваться по любой линии дифференцировки, в том числе с такими конечными элементами, как эндотелиальные клетки, клетки альвеолярного и бронхиального эпителия, миоциты, фибробласты и адипоциты.

Для инфузии пациенту использовалась только свежеприготовленная культура МСК. Срок приготовления трансплантата МСК составлял 2-4 часа до введения. При получении аутооттрансплантата МСК для пациентов с МЛУ-ТБ использовали от 40 до 65 мл КМ, из которого выделяли в среднем $266,29 \pm 35,97 \times 10^6$ МНК. В результате экспансии клеток в культуре количество МСК на выходе в среднем составляло $72,23 \pm 7,59 \times 10^6$, что позволяло получить трансплантат МСК в дозе, в среднем $1,03 \pm 0,1 \times 10^6$ /кг для каждого пациента.

Сравнение аналогичных иммунологических показателей в различных группах (пациенты и доноры) оценивали по тесту Манн–Уитни для рядов с непараметрическим распределением, и статистически значимым считалось различие при $p < 0,05$. Сравнение аналогичных иммунологических показателей в группе пациентов в динамике оценивали

используя парный тест Стьюдента, и статистически значимым считалось различие при $p < 0,05$. При расчетах использовали программы Excel (Microsoft office) и STATISTICA 6.0.

Результаты исследования.

Основные параметры динамики роста, полученных из МНК костного мозга 12 пациентов с МЛУ-ТБ *in vitro*, приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Основные характеристики экспансии МСК из МНК пациентов с МЛУ-ТБ *in vitro*

Пациент (n=12)	Объем КМ (мл)	МНК для экспансии $\times 10^6$	Срок культивирования (дни)	Число МСК на выходе $\times 10^6$	МСК/кг $\times 10^6$
1	60	330	27	74	1
2	50	500	28	85	1,2
3	40	440	36	65	1,14
4	60	140	28	43	0,65
5	60	130	34	41	0,7
6	56	240	32	94	1,3
7	57	100	33	53	0,9
8	60	400	29	79,0	0,95
9	47	336	44	58	0,79
10	54	100	40	135	1,8
11	60	400	27	72	1,5
12	125	250	57	78	0,8

Аутотрансплантат МСК, полученный из костного мозга пациентов с МЛУ-ТБ был сравнен с трансплантатом здоровых взрослых доноров. По всем основным параметрам достоверных различий в параметрах трансплантата не найдено. Получение такого количества МСК после 3 пассажей свидетельствует о высокой пролиферативной активности клеток и эффективности их для применения в качестве биотрансплантата для цитотерапии (таблица 3).

Таблица 3 - Параметры экспансии МСК из костного мозга пациентов и доноров *in vitro*.

Группы	Объем КМ (мл)	МНК для экспансии $\times 10^6$	МСК в основной культуре (дни)	Экспансия МСК (дни)	МСК на выходе $\times 10^6$	МСК/кг $\times 10^6$
Пациенты (n=12)	50,9 \pm 5,51	175,55 \pm 24,22	15 \pm 1	39 \pm 2	96,54 \pm 17,07	1,28 \pm 0,19
Доноры (n=14)	38,2 \pm 3,54	182,69 \pm 22,84	14 \pm 1	41 \pm 3	91,92 \pm 21,19	1,53 \pm 0,21
P	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05

Иммунофенотипический анализ трансплантата аутологических недифференцированных МСК после экспансии *in vitro* был проведен для каждого из 12 пациентов перед введением. Количественная оценка результатов иммунофенотипического

анализа показала, что трансплантат содержит более 95% клеток, экспрессирующих мезенхимальные маркеры CD90, CD105, CD44, CD166. В тоже время, количество клеток, несущих на своей поверхности антигены CD45, и CD34, являющиеся гемопоэтическими маркерами, составляло в каждом из полученных образцов МСК менее 1%. Несмотря на высокое изначальное содержание клеток моноцитарного ростка, ауотрансплантат МСК пациентов с туберкулезом содержал не более 2% клеток с иммунофенотипическим маркером CD14. Это свидетельствовало об отсутствии контаминации полученного биоматериала миелоидными клетками. Относительное количество позитивных клеток по иммунофенотипическим маркерам МСК и интенсивности флуоресценции приведены в таблице 4.

Таблица 4. – Иммунофенотипические характеристики ауотрансплантата МСК.

Показатели иммунофенотипического анализа	Иммунофенотипические маркеры МСК			
	CD90	CD105	CD44	CD166
Позитивные клетки в образце (%)	98,65 (70,7 - 99,9)	90,9 (72,7 - 99,5)	99,65 (69,1 - 99,9)	95,7 (68 - 99,5)
Интенсивность флуоресценции	2132 (903 – 3630)	288,5 (153,3 – 671)	1854,5 (1021 - 4072,8)	385,9 (196 - 762,5)

Жизнеспособность клеток в ауотрансплантате МСК составляла 98% (95% - 99%), что свидетельствовало о высоком качестве полученного материала. Таким образом, результаты проведенного исследования показывают, что ауотрансплантат МСК может быть получен в достаточном количестве путем экспансии в культуре МСК из костного мозга пациентов, получивших длительную химиотерапию МЛУ-ТБ. Несмотря на высокое начальное содержание клеток моноцитарного ростка, ауотрансплантат МСК пациентов с туберкулезом содержит более 94% клеток, экспрессирующих мезенхимальные маркеры CD90, CD105, CD44 и не более 2% клеток с иммунофенотипическим маркером CD14.

В работе были оценены результаты лечения пациентов основной и контрольной групп. Используемыми критериями эффективности лечения были: время получения 3-х подряд с промежутком в 1 месяц отрицательных результатов как микроскопии, так и культурального исследования мокроты, рентгенологическая динамика (уменьшение инфильтрации, уменьшение или закрытие полостей) во время последнего ИХТ, назначенного в соответствии с результатами ТЛЧ к основным и резервным ПТП. Реинфузия МСК в группе пациентов, получавших адьювантную терапию МСК, была выполнена через 5 (2-8) месяцев после начала курса ИХТ. Осложнений или побочных эффектов реинфузии МСК в исследовании зафиксировано не было. Результаты лечения представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Эффективность лечения пациентов с МЛУ-ТБ после 12 месяцев индивидуализированной химиотерапии

Группа (n)	Конверсия мокроты (3 подряд отрицательных результата микроскопии и посева) после 12 мес. ИХТ (пациенты)		R-логическое улучшение после 12 мес. ИХТ (пациенты)	
	абс.	% (95% CI)	абс.	% (95% CI)
МСК(12)	12/12	100	12/12	100
Контроль (24)	16/24	66,7 (47,8- 85,5)	18/24	75,0 (57,7-92,3)
RR (95% CI)	1,50 (1,13-1,99)		1,33 (1,05-1,68)	

Примечание: ИХТ – индивидуализированная химиотерапия (на основе модели МЛУ); RR – относительный риск; CI – доверительный интервал.

Конверсия мокроты в опытной группе наблюдалась у 100% пациентов по сравнению с 66,7% в контрольной группе. Таким образом, по результатам конверсии мокроты и рентгенологической динамики в течение 12 месяцев ИХТ с адьювантной терапией МСК имеет достоверное преимущество перед одной ИХТ.

Для исследования иммуномодулирующих свойств МСК динамика клеточных показателей периферической крови и популяционного анализа лимфоцитов проводилась до и после реинфузии МСК (таблица 6).

Таблица 6. Показатели естественной резистентности пациентов с МЛУ-ТБ в процессе индивидуализированной химиотерапии (ИХТ)

МСК (n=12)	1. День реинфузии	p	2. Через 2 мес.	3. Через 6 мес.
Нейтрофилы (%)	58 (38;73)	0,464	54 (47;70)	54(47;70)
Нейтрофилы x10 ⁶ /л	5,26 (3,80;9,04)	0,285	4,23 (3,16;11,82)	3,93(3,18;9,81)
МФН /мм ³	516 (236;1211)	<0,001	410 (107;650)	340(127;640)
ФП нейтрофилов (%)	55 (46;64)	0,095	58 (51;67)	62(56;62)
Контроль (n=24)	1. 4 (3-8) мес. ИХТ	p	2. Через 2 мес.	3. Через 6 мес.
Показатель	1,5 мес. ИХТ	p	2,7 мес. ИХТ	11 мес. ИХТ
Нейтрофилы (%)	65 (48;71)	0,567	63 (44;72)	61(42;72)
Нейтрофилы x10 ⁶ /л	4,81 (3,58;7,29)	0,382	4,45 (2,58;8,12)	4,26(2,12;8,11)
МФН /мм ³	589 (286;1151)	0,722	567 (256;986)	563(255;978)
ФП нейтрофилов (%)	54 (44;64)	0,103	51 (42;63)	49(42;66)

Примечание: МФН – молодые формы нейтрофилов (палочкоядерные+юные нейтрофилы+миелоциты).

Данные представлены как Me (min; max); p – парный тест Уилкоксона.

При применении МСК на фоне ИХТ в течение 2 месяцев достоверно уменьшалось абсолютное количество молодых форм нейтрофилов (МФН), описываемых морфологически как палочкоядерные, юные и миелоциты, которое сохранялось в

последующие 6 месяцев после реинфузии. При применении одной ИХТ указанного феномена не наблюдалось.

При мониторинге лимфоцитарных субпопуляций было выявлено, что абсолютное количество CD4+CD25+ клеток периферической крови достоверно повышается после реинфузии МСК. Данный феномен не наблюдался у пациентов с МЛУ-ТБ, получавших только ИХТ (таблица 7).

Таблица 7. Субпопуляции лимфоцитов периферической крови пациентов с МЛУ-ТБ в процессе индивидуализированной химиотерапии

МСК (n=12)	1. День реинфузии	p	2. Через 2 мес.	3. Через 6 мес.
Лимфоциты /мм ³	2820 (830; 5180)	0,087	2150 (1200; 3910)	2253 (1250; 3930)
CD4+CD8- /мм ³	1170 (410; 2240)	0,129	1220 (390; 1990)	1310 (380; 1970)
CD8+CD4- /мм ³	540 (200; 1590)	0,272	535 (280; 1010)	540 (270; 1020)
CD3+HLA-DR+/мм ³	95 (10; 190)	0,131	120 (30; 210)	130 (40; 220)
CD3-CD8+ /мм ³	172 (35; 662)	0,125	263 (76; 544)	271 (78; 541)
CD19+	375 (160; 860)	0,477	475 (160; 670)	486 (150; 680)
CD16+CD56+/мм ³	405 (100; 850)	0,275	400 (110; 940)	420 (120; 970)
CD3+CD16+CD56+/мм ³	50 (10; 400)	0,174	105 (30; 480)	98 (30; 470)
CD4+CD25+/мм ³	222 (75; 570)	<0,001	436 (275; 1027) ¹	466 (175; 1034) ¹
Контроль (n=24)	1. 4 (3-8) мес. ИХТ	p	2. Через 2 мес.	3. Через 6 мес.
Лимфоциты /мм ³	2300 (1600; 3,500)	0,098	2000 (1600; 2800)	2000 (1600; 2800)
CD4+CD8- /мм ³	1158 (930; 2480)	0,132	1145 (710; 3070)	1156 (710; 3000)
CD8+CD4- /мм ³	1115 (690; 2130)	0,428	965 (480; 307)	943 (460; 310)
CD3+HLA-DR+/мм ³	580 (120; 1520)	0,320	535 (90; 1072)	540 (70; 972)
CD3-CD8+ /мм ³	829 (487; 1850)	0,386	761 (305; 3070)	798 (300; 3040)
CD19+	740 (340; 1720)	0,367	660 (220; 2490)	620 (200; 2200)
CD16+CD56+/мм ³	1095 (880; 2410)	0,352	1074 (670; 3470)	1090 (540; 3780)
CD3-CD16+CD56+/мм ³	480 (200; 940)	0,208	520 (140; 750)	570 (150; 780)
CD4+CD25+/мм ³	229 (273; 989)	0,191	261 (180; 811)	270 (170; 800)

Примечание: ИХТ – индивидуализированная химиотерапия.

Данные представлены как Me (min.; max.); p – парный тест Уилкоксона.

Относительное содержание лимфоцитарных субпопуляций у пациентов, получивших МСК, сравнивали в динамике с контрольной группой, в которую вошли 10 здоровых взрослых доноров. При оценке иммунологических показателей периферической крови у пациентов после трансфузии МСК наблюдался рост субпопуляции цитотоксических лимфоцитов CD3-CD8+, не относящихся к Т-лимфоцитам (рис. 1), относительное содержание которых на 0 день составляло в среднем 7,41%±1,61% и

статистически не отличалось от содержания в периферической крови здоровых доноров ($5,44\% \pm 0,95\%$). Через 2 месяца после инфузии МСК и по 4-ый месяц включительно число этих клеток в крови больных было достоверно выше, и через 6 месяцев достигало в среднем $10,2\% \pm 2,13\%$. Аналогичная динамика наблюдалась и при оценке содержания естественных киллерных клеток CD16+56+ (рис. 2) составляющих в группе 12 пациентов $15,16\% \pm 1,86\%$ до реинфузии МСК и $19,18\% \pm 2,72\%$ к концу 6-го месяца. Данная динамика не наблюдалась в контрольной группе пациентов с МЛУ-ТБ.

Показатели субпопуляции лимфоцитов CD4+CD25+ в анализе периферической крови в группе пациентов до трансфузии МСК были ниже нормы, которая составляет 10% - 28% и значительно ниже, чем в группе здоровых доноров. Так, относительное количество CD4+CD25+ было в среднем $7,73\% \pm 1,04\%$ у больных с туберкулезом против $17,86\% \pm 1,81\%$ у доноров ($p < 0,01$). После реинфузии МСК наблюдался статистически достоверный рост субпопуляции CD4+CD25+ лимфоцитов в периферической крови пациентов, которые через 2 недели уже находились в пределах нормы и составляли $12,3\% \pm 1,71\%$. Через 6 месяцев включительно этот показатель составлял $13,6\% \pm 5,7\%$, и находился в пределах нормы (рис. 3). Данная картина не наблюдалась в контрольной группе пациентов с МЛУ-ТБ.

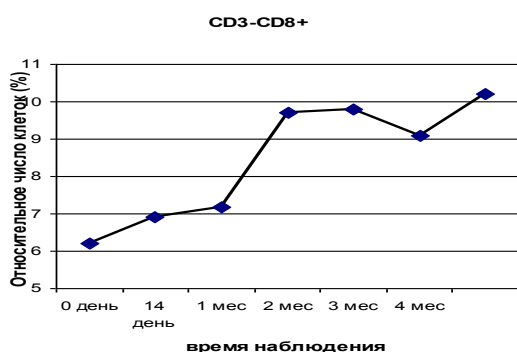


Рисунок 1. Динамика распределения субпопуляций лимфоцитов CD3-CD8+ у 12 пациентов МЛУ-ТБ в течение 4 месяцев после инфузии МСК.

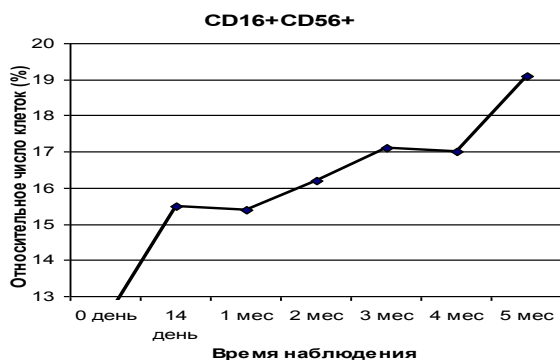


Рисунок 2. Динамика распределения субпопуляций лимфоцитов CD16+CD56+ у 12 пациентов МЛУ-ТБ в течение 4 месяцев после инфузии МСК.

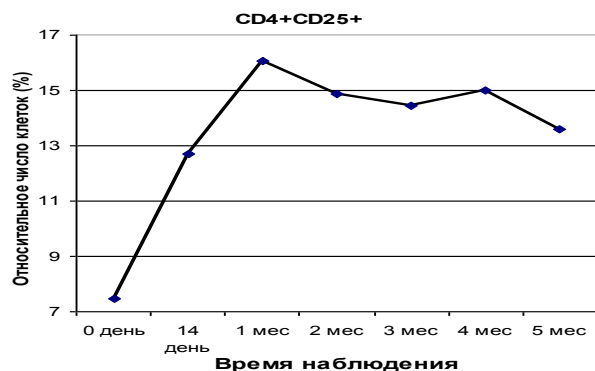


Рисунок 3. Динамика распределения субпопуляций лимфоцитов CD4+C25+ у 12 пациентов МЛУ-ТБ в течение 4 месяцев после инфузии МСК.

Заключение. Дополнительное применение аутологичных МСК при МЛУ-ТБ на фоне ИХТ дает лучшие результаты лечения. Доказанная ускоренная положительная рентгенологическая динамика у всех пациентов с МЛУ-ТБ, получивших МСК в качестве адьювантной терапии, наиболее вероятно связана с эффектом тканевой пластики МСК. Ускоренная конверсия мокроты в исследуемой группе может быть обусловлена как пластическим, так и иммуномодулирующим эффектом МСК.

Выявленные особенности показателей нейтрофилов в группе пациентов, получивших инфузию аутологичных МСК, а именно снижение МФН периферической крови, свидетельствуют о нормализации процессов гранулоцитопоэза, мобилизации и компарментализации нейтрофилов в результате снижения системного ответа организма, связанного с ускоренной эрадикацией патогена (ускоренная конверсия мокроты). Эффект МСК в данном случае, очевидно, заключается в том, что подобно ряду антигенпрезентирующих клеток, МСК, полученные из костного мозга человека, содержат на своей поверхности Toll-like рецептор, лигандом которому являются бактериальные липополисахариды (ЛПС), в частности арабиноманан на поверхности *Mycobacterium tuberculosis*. При межклеточном контакте с макрофагами МСК, связанные с ЛПС, способны, с одной стороны, инициировать не только пролиферацию, но и ускоренную дифференцировку нейтрофилов, активируя миелоидный фактор дифференцировки-88. С другой стороны, МСК синтезируют простагландин Е и способны перепрограммировать альвеолярные макрофаги на усиление синтеза противовоспалительного цитокина ИЛ-10, сдерживающего мощный выброс нейтрофилов, содержащих миелопероксидазу, что препятствует разрушению легочной ткани.

Рост популяции не Т-цитотоксических лимфоцитов и естественных киллерных клеток свидетельствует об активации цитотоксического звена иммунной системы

пациента после трансфузии МСК. Полученные данные по увеличению абсолютного и относительного количества CD4+CD25+ и, следовательно, повышению экспрессии рецепторов к ИЛ-2 на Т-хелперах в периферической крови исследуемой группы пациентов также свидетельствуют об активации иммунитета после реинфузии МСК, что не наблюдается у пациентов с туберкулезом, в терапию которых ауотрансплантация МСК не входила.

Литература

1. World Health Organization, the HWO/IUATLD Anti-tuberculosis drug resistance in the world: The WHO/IUATLD Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. Anti-tuberculosis Drug Resistance in the World: Forth Global Report. WHO/HTM/TB/2008.394. – Geneva : WHO, 2008. – 64 p.
2. Цыб А.Ф., Конопляников А.Г., Колесникова А.И., Павлов В.В. Получение и использование в медицине клеточных культур из мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека // Вестн. РАМН. – 2004.- Т. 59, №9. – с.71-76.
3. Ortiz L.A., Gambelli F., McBride C., et al. Mesenchymal stem cell engraftment in lungs is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol. 100, no. 14. – p. 8407 – 11.
4. Ярыгин В.Н. Тканевые клеточные системы – основа биомедицинских клеточных технологий нового поколения: контуры идеологии. // Вестн. РАМН. – 2004.- Т. 59, №9. – с.12-19.
5. Feasibility and cost-effectiveness of standardised second-line drug treatment for chronic tuberculosis patients: A national cohort study in Peru / P.G. Suarez [et al.] // Lancet. – 2002. – Vol. 359. – P. 1980–1989.
6. Self-administered, standardized regimens for multi-drug resistant tuberculosis in South Korea / S.K. Park [et al.] // International J. of Tuberculosis a. Lung Disease. – 2004. – Vol. 8. – P. 361–368.
7. Treatment and follow-up of HIV-negative multidrug resistant tuberculosis patients in an infectious diseases reference hospital, Buenos Aires, Argentina / D.J. Palmero [et al.] // International J. Tuberculosis and Lung Disease. – 2004. – Vol. 8. – P. 778–784.
8. Treatment of 171 patients with pulmonary tuberculosis resistant to isoniazid and rifampin / M. Goble [et al.] // *New England J. of Medicine*. – 1993. – Vol. 328. – P. 527–532.
9. Drug resistance among failure cases of tuberculosis: Is the standard re-treatment regimen adequate? / HTW Quy [et al.] // *International J. of Tuberculosis a. Lung Disease*. – 2003. – Vol. 7. – P. 631–636.
10. Mitchison, D.A. Influence of initial drug resistance on the response to short-course chemotherapy of pulmonary tuberculosis / D.A. Mitchison, A.J. Nunn // *Amer. Rev. Respiratory Diseases*. – 1986. – Vol. 133. – P. 423–430.

Скрягина Е. М.¹, Скрягин А. Е.², Исайкина Я. И.³, Солодовникова В.В.¹

Лечение пациентов с множественно лекарственно устойчивым туберкулезом с использованием аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток

¹ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии», ²УО «БГМУ»,

³ГУ «РНПЦ детской онкологии и гематологии»

Резюме

Целью данной работы было разработать и внедрить метод лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) с использованием аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

Было проведено предварительное клиническое, рентгенологическое, иммунологическое и бактериологическое обследование пациентов с последующим формированием основной (12 пациентов) и контрольной (24 пациента) групп. Пациентам основной группы на фоне индивидуализированной химиотерапии, с учетом результатов теста на лекарственную чувствительность, провели забор костного мозга, процессинг и реинфузию аутологичных МСК.

Было установлено, что дополнительное применение аутологичных МСК при МЛУ-ТБ на фоне индивидуализированной химиотерапии дает лучшие результаты лечения. Доказана ускоренная положительная рентгенологическая динамика и уменьшение сроков абациллирования пациентов. Это связано с эффектом репарации ткани пораженного легкого и коррекции иммунитета после ауто трансплантации МСК у пациентов с МЛУ-ТБ.

A.M.Skrahina¹, A.Y.Skrahin², Y.I.Isaikina³, V.V.Solodovnikova¹

The treatment of patients with multidrug-resistant pulmonary tuberculosis by using mesenchymal stromal cells autologous transplantation

¹Republic Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthisiology, Minsk, Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

³Republic Scientific and Practical Center for Children's Oncology and Hematology, Minsk, Belarus

Summary

The purpose of this work was to develop and implement a method of treatment of multi-drug resistant tuberculosis (MDR-TB) using mesenchymal stromal cells (MSC) autologous transplantation.

It was a preliminary clinical, radiological, immunological and bacteriological examination of patients with subsequent formation of basic (12 patients) and control (24 patient) groups. Patient groups with individualized chemotherapy given drug susceptibility test results conducted the fence of marrow, processing and reinfusion of autologous MSC.

It was found that the additional application of autologous MSC in patients with MDR-TB with customized chemotherapy treatment gives better results of treatment. The accelerated positive X-ray dynamics and shorter terms of patients abacillary was proved. This is because the effect of tissue repair and immunity correction after autotransplantation MSC in patients with MDR-TB.