

**ЦИТОТЕРАПИЯ МУЛЬТИПОТЕНТНЫМИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ  
СТРОМАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ТУБЕРКУЛЕЗА С  
МНОЖЕСТВЕННОЙ И ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ  
УСТОЙЧИВОСТЬЮ**

А.Е. Скрягин<sup>1</sup>, Я.И. Исайкина<sup>3</sup>, Е.М. Скрягина<sup>2</sup>, В.В. Солодовникова<sup>2</sup>,  
О.Т. Прасмыцкий<sup>1</sup>, З.И. Рогова<sup>2</sup>, Д.А. Ветушко<sup>2</sup>,  
Л.И. Метелица<sup>2</sup>, М.И. Дюсьмикеева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск,  
Беларусь

<sup>2</sup>ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии», Минск, Беларусь

<sup>3</sup>ГУ «РНПЦ детской онкологии и гематологии», Минск, Беларусь

**Введение**

Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ), вызываемый микобактериями туберкулеза (МБТ), устойчивыми одновременно к изониазиду и рифампицину, и его разновидность - туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ), вызываемый МБТ, устойчивыми одновременно к изониазиду, рифампицину, любому фторхинолону и любому инъекционному противотуберкулезному лекарственному средству (ПТЛС) второго ряда с или без устойчивости к другим ПТЛС, является в настоящее время серьезной проблемой. Результаты лечения МЛУ/ШЛУ-ТБ крайне неудовлетворительны [20].

Помимо введения в режимы химиотерапии новых ПТЛС (эта возможность при данной форме туберкулеза ограничена) и новых подходов к хирургическому лечению постоянно продолжается поиск эффективных методов воздействия на иммунологические и регенеративные процессы организма. Имеются данные об определенной эффективности использования интерферона (ИФН)- $\alpha$  и ИФН- $\gamma$  [8], аэрозольного ИФН- $\gamma$ , сочетания ИФН- $\gamma$  с гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ) [19], интерлейкина-2 (ИЛ-2) [12] при лечении мультирезистентного туберкулеза.

Одним из перспективных путей в этом направлении является применение клеточной терапии мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками (ММСК), в результате которой восстанавливается популяция стромальных клеток в различных органах, в том числе и в легких [4, 16]. ММСК являются источником цитокинов и ростовых факторов, которые участвуют в регуляции иммунного ответа, а также в развитии регенеративных процессов в поврежденной ткани легкого [5]. Клинические испытания метода трансплантации стволовых клеток при различных заболеваниях (инфаркт миокарда, цирроз печени, болезни легких с массивными повреждениями альвеол) указывают на улучшение структуры и функции пораженных органов и тканей [13]. Имеются данные об успешном использовании ММСК при МЛУ-ТБ [1, 2, 3].

ММСК имеют следующие свойства, делающие их наиболее перспективными для применения в цитотерапии: 1) легкость в получении; 2) высокий пролиферативный потенциал; 3) генетическая стабильность; 4) воспроизводимость основных характеристик (способность к дифференцировке, миграционная активность) от пассажа к пассажи. В настоящее время накоплен обширный исследовательский материал, доказывающий, что основной системный эффект ММСК связан с секрецией ими растворимых факторов. ММСК секретируют SDF-1 [18], который играет критическую роль в заселении гематопозитическими стволовыми клетками своих стромальных ниш. ММСК секретируют ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-14, ИЛ-15, макрофагальный колониестимулирующий фактор (КСФ), Flt-3 лиганды, фактор стволовой клетки. При стимуляции ИЛ-1 $\alpha$  ММСК выделяют: лейкоингибиторный фактор, гранулоцитарный КСФ, ИЛ-1 $\alpha$ , гранулоцитарно-макрофагальный КСФ [9, 11, 17]. Кроме того, ММСК могут экспрессировать хемокиновые лиганды CCL2, CCL4, CCL5, CCL20, CX3L1, CXCL8 [10]. С синтезом растворимых факторов связан и иммуномоделирующий эффект ММСК. Продукция таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) способствует направленной миграции нейтрофилов и макрофагов в

место скопления патогенов, задержка апоптоза нейтрофилов и их активация также зависят от уровня ИЛ-6. ИЛ-6 и ИЛ-12 усиливают пролиферацию Т-лимфоцитов и их дифференцировку, а ИЛ-15 обеспечивает активацию Т-лимфоцитов. Возможность использования ММСК для тканевой пластики легких показана в исследованиях, доказывающих способность ММСК вселяться в поврежденные участки легких и дифференцироваться в клетки специфичные для легочной ткани [6, 14]. В *in vivo* исследованиях доказана также эффективность применения ММСК для предупреждения и лечения синдрома острого повреждения легких [7, 15].

### **Материалы и методы**

В исследование вошли пациенты с МЛУ/ШЛУ-ТБ, диагноз у которых был подтвержден методом посева и тестированием лекарственной чувствительности (ТЛЧ) МБТ к основным и резервным ПТЛС. В период курса индивидуализированной химиотерапии (ИХТ) с применением ММСК клинический, рентгенологический и лабораторный мониторинг пациентов осуществлялся в соответствии с существующими стандартами для данной категории больных. Дополнительно общий и биохимический анализ крови пациентам выполняли в день инфузии ММСК, на 7, 14, 21 и 28 день после инфузии и далее ежемесячно.

*Забор костного мозга (КМ).* Забор КМ проводили в асептических условиях, под местной анестезией. Из одного или двух проколов подвздошной кости (со стороны задней поверхности) аспирировали 40-80 мл КМ. Аспират КМ помещали в 10 мл вакутайнеры с сухим гепарином и транспортировали в лабораторию.

*Получение аутотрансплантата ММСК.* Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли из костного мозга методом деления клеток по градиенту плотности на Гистопак 1,077 (Sigma, США), с последующей двукратной отмывкой отсепарированной фракции клеток в 0,9% растворе хлорида натрия (НЗМП, РБ). Полученные МНК ресуспендировали в среде IMDM, содержащей 10% эмбриональную телячью сыворотку (ЭТС) (Sigma, США), 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 см<sup>2</sup> (Sarstedt, Германия). Клетки инкубировали при 37° в 5% CO<sub>2</sub>. Через 48 часов производили смену среды, удаляя, таким образом, клетки, находящиеся в суспензии. При 80–90% покрытии поверхности флакона прикрепленными клетками, среду удаляли и клетки дезадгезировали с пластика добавлением 5 мл 0,25% трипсин-ЭДТА (Sigma, США). При переходе всех клеток во взвешенное состояние действие трипсина ингибировали с помощью ЭТС. Клетки отмывали в 0,9% растворе хлорида натрия и в количестве  $1 \times 10^6$  пересаживали во флаконы 175 см<sup>2</sup> (I-ый пассаж). Таким образом, было проведено 3 пассажа, при которых ММСК 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.

*Иммунофенотипический анализ ММСК.* Окраску клеток моноклональными антителами (МКА) CD105, CD90, CD44, CD34, CD14 меченными ФЭ и CD45, меченными ФИТЦ (Beckman Coulter), проводили по стандартной методике. Оценку неспецифического связывания МКА проводили с использованием изотипического контроля. К образцу (100-200 тыс. клеток) добавляли 20 мкл специфических МКА и изотипического контроля и инкубировали в темноте при комнатной температуре 25-30 мин. После инкубации с антителами клетки дважды отмывали в фосфатном буфере, центрифугируя 5 мин. при 300g. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACSCan Becton Dickinson в программе CellQuestPro. Для каждого образца анализировали не менее 10 тыс. клеток. Дополнительно к исследованию связывания МКА регистрировали параметры прямого и бокового светорассеяния клеток.

Обязательным требованием являлось исследование ММСК из каждого пассажа на стерильность по всему спектру возможной бактериальной и вирусной контаминации.

*Оценка жизнеспособности ММСК.* Для анализа жизнеспособности в 0,5 мл пробирку вносили 20 мкл суспензии клеток и 20 мкл 0,4 % раствора трипанового синего, тщательно смешивали содержимое пробирки. При помощи светового микроскопа визуально подсчитывали в камере Горяева окрашенные (мертвые) и неокрашенные (живые) клетки в количестве не менее 100 клеток. Производили расчет коэффициента жизнеспособности клеток в процентах от общего подсчитанного числа клеток.

*Иммунофенотипический анализ лимфоцитов периферической крови.* Для мониторинга лимфоцитарных субпопуляций в пред- и постреинфузионном периоде, периферическую кровь набирали в пробирки с консервантом (ЭДТА, цитрат натрия) в объеме от 2.5 до 5.0 мл и доставляли в лабораторию. Цельная кровь разливалась по 150 мкл в 8 пробирок (FALCON test tubes - “Becton Dickinson”), в которые затем было добавлено по 10 мкл каждого из моноклональных АТ: изотипический контроль (IgG<sub>1</sub>/ IgG<sub>2</sub>), CD45/CD14, CD3/CD19, CD3/CD4, CD3/CD8, CD3/HLA-DR, CD3/CD16-56, CD4/CD25. Пробы инкубировали в течение 20 минут при комнатной температуре в темном месте. После перемешивания содержимого пробирок к нему добавляли по 2 мл лизирующего раствора, состоящего из 10 мл концентрата FACS Lysing Solution (“Becton Dickinson”) и 90 мл воды, и инкубировали 2-3 минуты. Клетки осаждали центрифугированием в течение 3 минут при 2200 об./мин., с последующей трехкратной отмывкой в 1 мл PBS Cell Wash (“Becton Dickinson”). К отмывым клеткам добавляли 0.5 мл PBS. Результаты учитывали на аппарате FACScan (“Becton Dickinson”).

Данное исследование было одобрено локальным этическим комитетом. Информированное согласие было получено от всех пациентов, получивших ММСК в качестве адъювантной терапии МЛЮ/ШЛЮ-ТБ.

## **Результаты и обсуждение**

*Характеристики аутотрансплантата ММСК.* Биотрансплантат ММСК создавался для каждого пациента индивидуально. МСК были выделены из костного мозга 14 пациентов и экспансированы *in vitro* до нужного объема (в

зависимости от массы тела каждого из 14 больных) для дальнейшей трансплантации, как описано в главе «Материалы и методы». Клетки 3 пассажа, при достижении 90% конфлюэнтного монослоя на поверхности флакона, были сняты и использованы для введения пациентам. Все полученные *in vitro* ММСК были морфологически однородны, имели фибробластоподобную форму при культивировании на пластике и, в большинстве своем, морфологически не проявляли признаков “старения”, которое выражается в приобретении клетками крупного размера, распластанной “рваной” формы и вакуолизации цитоплазмы. Находясь в суспензии для введения пациенту, МСК имели вид больших округлых клеток с круглым ядром, размер которых визуальнo в 3–4 раза превышал размер нейтрофилов.

Для инфузии пациенту использовалась только свежеприготовленная культура МСК, срок приготовления трансплантата ММСК составлял 2-4 часа до введения.

Ни в одной клеточной культуре при контроле на бактериальную и вирусную контаминацию патогенов не было выявлено.

Количественное значение инфузируемой клеточной дозы ММСК представлено в таблице 1. 3 пациента из 14 имели относительно низкую клеточную дозу, менее  $0,5 \times 10^6$  /кг. Достоверной связи культивируемой клеточной дозы ММСК с полом, возрастом пациента, длительностью заболевания, моделью лекарственной устойчивости, получаемой химиотерапией найдено не было.

Результаты иммунофенотипического анализа *in vitro* экспансированных ММСК свидетельствовали, что CD90 антиген экспрессировали 98,7% (75,7–99,9%) клеток, CD105 антиген - 93,9% (75,1–99,5%) клеток и CD44 антиген - 99,7% (71,9–99,9%) клеток. 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%, наличие CD14 антигена было выявлено менее чем у 2% культивированных для инфузии клеток. Это свидетельствовало об отсутствии контаминации

полученного биоматериала миелоидными клетками. Жизнеспособность клеток в аутотрансплантате ММСК составляла 98% (95-99%), что свидетельствовало о высоком качестве полученного материала.

*Результаты лечения.* Для когортного анализа окончательных результатов лечения в соответствии с критериями ВОЗ (излечение, лечение завершено, смерть, неудача в лечении, прерывание лечения, перевод в другую когорту или потеря связи с пациентом) необходимо значительно большее время наблюдения (лечение может быть признано завершенным как минимум через 18 месяцев после конверсии мокроты). В исследование вошло 8 пациентов с МЛУ-ТБ и 6 пациентов с ШЛУ-ТБ. В подавляющем большинстве это были пациенты, получавшие противотуберкулезное лечение в прошлом. Только один пациент имел диагноз впервые выявленного туберкулеза. 3 пациента были включены в исследование после неудачи лечения в прошлом, остальные 10 пациентов характеризовались как хронические случаи, т.е. имели в прошлом 2 и более курса неудачного лечения. Применение ММСК проводили на фоне курса индивидуализированной (ИХТ) химиотерапии с учетом модели устойчивости/чувствительности выделяемых пациентом МБТ. Время от начала курса ИХТ до инфузии ММСК составило 48–322 дня. На момент начала курса ИХТ выделение МБТ регистрировалось микроскопически в мазке мокроты и методом посева у 5 пациентов, и только методом посева у 9 пациентов. Двое пациентов в прошлом перенесли хирургическое лечение: экстраплевральная торакопластика – 1, пневмонэктомия – 1. Во время инфузии ММСК выделение МБТ не регистрировалось у 2-х пациентов. 6 пациентов успешно завершили лечение (излечение – 5, лечение завершено – 1), у троих зарегистрирована неудача в лечении, конверсии мокроты у них достигнуто не было. У остальных 5-ти пациентов после инфузии ММСК зарегистрирована конверсия мокроты, и они продолжают запланированный курс ИХТ. У тех пациентов, у которых наблюдалась конверсия мокроты, время от начала ИХТ до конверсии мокроты составило 4 (3–17) месяцев (Me(min-max)), время от инфузии ММСК до конверсии мокроты составило 2 (1–9) месяцев. Все пациенты, ответившие на

лечение конверсией мокроты, имели положительную рентгенологическую динамику процесса в легких. Тщательное клиническое и лабораторное мониторирование пациентов во время и после инфузии ММСК не выявило побочных и токсических эффектов.

Таким образом, предварительные результаты использования ММСК в лечении МЛУ/ШЛУ-ТБ указывают на клиническую эффективность и безопасность метода. В дальнейшем целесообразно проведение проспективного контролируемого многоцентрового исследования.



## Литература

1. Ерохин В.В., Цыб А.Ф., Чуканов В.И., и др. Клеточные технологии в терапии хронического мультирезистентного туберкулеза легких. Проблемы туберкулеза и болезней легких. - 2006; - №8. - С. 3-5.
2. Лечебный эффект системной трансплантации культивируемых аутогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у больных с резистентными формами туберкулеза легких / И.А. Васильева [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия – 2007. – Т. 2, №1. – С. 77–80.
3. Системная трансплантация аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в лечении больных множественным лекарственно – устойчивым туберкулезом легких / В.В. Ерохин [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2008. – № 10. – С. 3–6.
4. 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.
5. Ярыгин В.Н. Тканевые клеточные системы – основа биомедицинских клеточных технологий нового поколения: контуры идеологии. // Вестн. РАМН. – 2004.- Т. 59, №9. – С.12-19.
6. Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium / D.N. Kotton [et al.] // Development. – 2001. – Vol. 128. – P. 5181–5188.
7. Bone marrow-derived progenitor cells are important for lung repair after lipopolysaccharide-induced lung injury / M. Yamada [et al.] // J. of Immunology. – 2004. – Vol. 172. – P. 1266–1272.
8. Condos R., Rom W.N., Schluger N.W. Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon-gamma via aerosol. Lancet 1997; 349: 1513-5.
9. Deans R.J., Moseley A.B. Mesenchymal stem cells biology and potential clinical use // Exp. Hematol. – 2000. – Vol. 28. – P. 875–84.
10. Human bone marrow stromal cells express a distinct set of biologically functional chemokine receptors / M. Honzharenko [et al.] // Stem. Cells – 2006. – Vol. 24. P. 1030–1034.
11. Induction the chemokine stromal derived factor-1 following DNA damage improves human stem cell function / T. Ponomarev [et al.] // J. Clin. Invest. – 2000. – Vol. 106. – P. 1331–1339.
12. Jonson B.J., Bekker L.G., Rickman R., et al. rhuIL-2 adjunctive therapy in multidrug resistant tuberculosis: a comparison two regimens and placebo. Tuberc Lung Dis 1997; 78: 195-203.

13. Korblyng M., Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair – a new therapeutic concept? *N Engl J Med* 2003; 349: 570-82.
14. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. / L.A. Ortiz [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2003. – Vol.100. – P. 8407–8411.
15. Neuringer I.P., Randell S.H. Stem cells and repair of lung injuries // *Respiratory Research.* – 2004. – Vol. 5. P. 6.
16. 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.
17. Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells and stromal cells / M.K. Majumdar [et al.] // *J. Cell. Physiol.* – 1998. – Vol. 176. – P. 57–66.
18. Prevention of LPS-induced acute lung injury in mice by mesenchymal stem cells overexpressing angiopoietin 1 / S.H. Mei [et al.] // *PLoS Medicine.* – 2007. – Vol. 4. – P. 269.
19. Raad I., Hachem R., Leeds N., et al. Use of adjunctive treatment with interferon-gamma in immunocompromised patients who had refractory multidrug-resistant tuberculosis of the brain. *Clin Infect. Dis* 1996; 22: 572-4.
20. WHO Global Task Force on XDR-TB. Meeting (2006 Geneva Switzerland), World Health Organization. Report of the meeting of the WHO Global Task Force on XDR-TB: Geneva, Switzerland, 9–10 October 2006. (WHO/HTM/TB/2007.375) Geneva: World Health Organization; 2007. p. 25.

## **Цитотерапия мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками туберкулеза с множественной и широкой лекарственной устойчивостью**

А.Е. Скрягин<sup>1</sup>, Я.И. Исайкина<sup>3</sup>, Е.М. Скрягина<sup>2</sup>, В.В. Солодовникова<sup>2</sup>,  
О.Т. Прасмыцкий<sup>1</sup>, З.И. Рогова<sup>2</sup>, Д.А. Ветушко<sup>2</sup>,  
Л.И. Метелица<sup>2</sup>, М.И. Дюсьмикеева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск,  
Беларусь

<sup>2</sup>ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии», Минск, Беларусь

<sup>3</sup>ГУ «РНПЦ детской онкологии и гематологии», Минск, Беларусь

### **Резюме**

Ключевые слова: цитотерапия, легочный туберкулез, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, МЛУ-ТБ, ШЛУ-ТБ.

В исследование вошли 8 пациентов с МЛУ-ТБ и 6 пациентов с ШЛУ-ТБ, диагноз у которых был подтвержден методом посева и тестированием лекарственной чувствительности МБТ к основным и резервным ПТЛС. В период курса индивидуализированной химиотерапии с применением ММСК клинический, рентгенологический и лабораторный мониторинг пациентов осуществлялся в соответствии с существующими стандартами. Все пациенты, ответившие на лечение конверсией мокроты, имели положительную рентгенологическую динамику процесса в легких, что указывает на клиническую эффективность метода. В дальнейшем целесообразно проведение контролируемого многоцентрового исследования.

## **Celltherapy of multipotent mesenchymal stromal cells for multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis**

A.E. Skrahin<sup>1</sup>, J.I. Isaikina<sup>3</sup>, A. M. Skrahina<sup>2</sup>, V.V. Solodovnikova<sup>2</sup>,  
O.T. Prasmitsky<sup>1</sup>, Z.I. Rohava<sup>2</sup>, D.A. Vetushko<sup>2</sup>,  
L.I. Metelitsa<sup>2</sup>, M.I. Dziusmikeyeva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Belarussian State Medical University, Minsk, Belarus*

<sup>2</sup> *Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Tuberculosis, Minsk, Belarus*

<sup>3</sup> *National research center for pediatric oncology and hematology, Minsk, Belarus*

### **Abstract**

*Key words:* cellular therapy, pulmonary tuberculosis, multipotent mesenchymal stromal cells, MDR-TB, XDR-TB.

The study included 8 patients with MDR-TB, and 6 patients with XDR-TB diagnosis was confirmed in that the method of drilling and testing drug susceptibility *M. tuberculosis*.

During the course of individual chemotherapy with MMSCs clinical, radiological and laboratory monitoring of patients was carried out in compliance with existing standards. All patients responded to treatment sputum conversion, had positive radiological dynamics in the lungs, indicating that the clinical efficacy of the method. Further expedient controlled multicenter study.

## **Авторы:**

А.Е. Скрягин - к.м.н., ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии УО «Белорусский государственный медицинский университет», моб. тел. +375 29 184 07 83

Я.И. Исайкина – к.б.н., научный сотрудник ГУ «РНПЦ детской онкологии и гематологии»

Е.М. Скрягина - д.м.н., заместитель директора по научной работе ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии»

В.В. Солодовникова - научный сотрудник отдела лабораторной диагностики и лечения туберкулеза ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии»

О.Т. Прасмыцкий - к.м.н., доцент, научный сотрудник ГУ «РНПЦ детской онкологии и гематологии»

З.И. Рогова - научный сотрудник отдела лабораторной диагностики и лечения туберкулеза ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии»

Д.А. Ветушко – врач-фтизиатр, зав. туберкулезным (лекарственно-устойчивых форм туберкулеза) отделением для взрослых №3 ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии»

Л.И. Метелица - врач-фтизиатр туберкулезного (легочного) отделения для взрослых №2 ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии»

М.И. Дюсьмикеева – врач-патологоанатом, зав. патологоанатомическим отделением ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии»