

Аутологичная трансплантация мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при туберкулезе легких с множественной и широкой лекарственной устойчивостью/ А.Е. Скрыгин, В.В. Солодовникова, Я.И. Исайкина, Г.Л. Гуревич, М.И. Дюсмикеева, З.И. Рогова, А.А. Широчин, Д.А. Ветушко, Д.Г. Печинский, Е.М. Скрыгина // Медицинская панорама. – 2013. – №9. – С.10-14.

УДК 616–002.5:579.873.21:615.281.873.21

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

²ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии». Минск, Беларусь

³ГУ «РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минск, Беларусь

Введение

Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ), вызываемый микобактериями туберкулеза (МБТ) устойчивыми одновременно к изониазиду и рифампицину с или без устойчивости к другим противотуберкулезным лекарственным средствам (ПТЛС), а также его разновидность - туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ), вызываемый МБТ, устойчивыми одновременно к изониазиду, рифампицину, любому фторхинолону и любому инъекционному ПТЛС второго ряда, является в настоящее время серьезной проблемой. Возможности применения химиотерапии при МЛУ/ШЛУ-ТБ крайне ограничены и результаты лечения этой формы заболевания остаются крайне низкими [1].

Актуальность проблемы клеточной терапии лекарственно устойчивого туберкулеза с использованием мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) в настоящее время высока. В 2009-2010 гг. в формате мероприятий Национальной противотуберкулезной программы Беларуси Республиканским научно-практическим центром пульмонологии и фтизиатрии, Республиканской референс-лабораторией в сотрудничестве с Супранациональной референс-лабораторией Института по контролю за инфекционными заболеваниями (Стокгольм, Швеция) и региональным бюро ВОЗ был проведен надзор за лекарственной устойчивостью МБТ среди бактериологически подтвержденных случаев туберкулеза в г. Минске. В результате был установлен высокий уровень множественной лекарственной устойчивости среди вновь выявленных (35,3%) и ранее леченных (76,5%) пациентов. Среди вновь выявленных случаев ШЛУ-ТБ составил 5,5%, среди ранее леченных – 23,1% [2]. Более репрезентативный надзор за лекарственной устойчивостью МБТ в масштабе целой республики, проведенный в 2010-2011 гг. подтвердил высокий уровень МЛУ/ШЛУ-ТБ в Беларуси [3].

Возможности химиотерапевтического лечения ШЛУ-ТБ крайне ограничены. Постоянно продолжается поиск эффективных методов воздействия на иммунологические и регенеративные процессы организма. В литературе имеются сообщения об определенной эффективности использования аэрозольного интерферона ИФН-γ [4], сочетания ИФН-γ с гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ) [5], интерлейкина-2 (ИЛ-2) [6] при лечении мультирезистентного туберкулеза. Аутологичная трансплантация (АТ) ММСК восстанавливает популяцию стромальных клеток в различных органах, в том числе и в легких [7, 8]. ММСК являются источником цитокинов и ростовых факторов, которые участвуют в регуляции иммунного ответа, а также в развитии регенераторных процессов в поврежденной ткани легкого [9, 10, 11]. 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. МСК секретируют SDF-1 [11, 12], который играет критическую роль в заселении гематопозитическими стволовыми клетками своих стромальных ниш. ММСК секретируют интерлейкин (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 клеток интерлейкином-1 α (ИЛ-1 α), ММСК выделяют: ингибиторный фактор лейкемии, гранулоцитарный КСФ, ИЛ-1 α , гранулоцитарно-макрофагальный КСФ [13, 14, 15]. Кроме того, ММСК могут экспрессировать хемокиновые лиганды: CCL2, CCL4, CCL5, CCL20, CX3L1, CXCL8 [16]. С синтезом растворимых факторов связан и иммуномодулирующий эффект ММСК. Продукция таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-1 β , ИЛ-6 и фактора некроза опухоли- α способствует направленной миграции нейтрофилов и макрофагов в место скопления патогенов, задержка апоптоза нейтрофилов и их активация так же 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 заселять поврежденные участки легких и дифференцироваться в клетки специфичные для легочной ткани [17]. В исследованиях *in vivo* доказана также эффективность применения ММСК для предупреждения и лечения синдрома острого повреждения легких [18].

Цель исследования

Разработка метода аутологичной трансплантации (АТ) ММСК для включения его в комплексную терапию пациентов с МЛУ/ШЛУ-ТБ является новым, перспективным направлением, что и определило выбор настоящего исследования.

Объекты, материалы и методы

Пациенты

Критериями включения пациентов в исследование были: ТБ легких, МЛУ/ШЛУ-ТБ, установленный тестами лекарственной чувствительности (ТЛЧ); возраст от 18 до 60 лет; добровольное информированное письменное согласие на участие в исследовании; способность пациента сотрудничать с врачом-исследователем.

Критерии исключения: возраст до 18 и свыше 60 лет; ВИЧ-инфекция, беременность и лактация; тяжелые острые и хронические сопутствующие заболевания; аутоиммунные заболевания; алкоголизм или наркомания; применение в период исследования любых иммуномодулирующих препаратов; отказ пациента от участия в исследовании.

Обследование пациентов включало: предварительное клиническое, рентгенологическое, лабораторное и бактериологическое обследование.

В исследование включено 40 пациентов с МЛУ/ШЛУ-ТБ, в т.ч. 20 – в основную группу; 20 – в группу сравнения, в возрасте Me (Max; Min) 29 (20; 46) и 31 (21; 62) лет, соответственно. Рентгенологически у всех пациентов основной и контрольной групп имелись инфильтративные изменения, признаки распада в легких отмечались у 15 пациентов основной и 14 – группы сравнения. Каверны были обнаружены у 10 пациентов основной и 11 пациентов группы сравнения; двусторонний процесс отмечался у 6 пациентов основной группы и 7 пациентов группы сравнения. У всех пациентов диагноз был установлен бактериологически. У 9 человек основной и 10 группы сравнения, вначале лечения по протоколу индивидуализированной химиотерапии, регистрировалась положительная микроскопия мазка мокроты. Тесты лекарственной чувствительности были выполнены у всех пациентов. Количество пациентов с различной моделью резистентности (множественная, широкая и пре-широкая) в группах было: 6/4/10 и 8/7/5. В основной и контрольной группах по 8 пациентов были зарегистрированы как впервые выявленные, остальные как ранее леченные (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика пациентов

Признак	Основная группа	Контрольная
---------	-----------------	-------------

		группа
n	20	20
Пол, М/Ж	11/9	15/5
Возраст, Me (Max; Min)	29 (20; 46)	31 (21; 62)
Рентгенологическая картина		
Очаговые изменения /инфильтрация	20	20
Признаки распада	15	14
Каверны	10	11
Одно-/двустороннее поражение	14/6	13/7
Бактериовыделение		
Микроскопия мазка	9	10
Культура	20	20
Предварительное лечение		
Впервые выявленные	8	8
Ранее леченые	12	12
Модель резистентности		
М/пре-Ш/Ш ЛУ	6/4/10	8/7/5

Примечание: М – множественная; пре-Ш - пре-Широкая (устойчивость одновременно к изониазиду и рифампицину, плюс к любому фторхинолону или любому инъекционному ПТП второго ряда); Ш – широкая; ЛУ – лекарственная устойчивость.

Коллекция костного мозга

После обработки кожи в асептических условиях под местной анестезией пунктировали подвздошную кость стерильной иглой для пункции и аспирации костного мозга (КМ). КМ аспирировали 10-мл шприцами и наполняли 10-мл вакутайнеры с сухим гепарином. После заполнения, вакутайнеры постоянно встряхивали. После процедуры на место пункции накладывали асептическую наклейку.

Процессирование ММСК

Выделение мононуклеаров КМ

Для выделения мононуклеарных клеток пунктата КМ после добавления равного объема фосфатного буферного раствора (PBS), центрифугировали в течение 10 мин. при 1500 об/мин. Клеточный осадок ресуспендировали в 8 мл среды RPMI, содержащей 10% ЭТС, 1% антибиотика, 1% глутамина и наслаивали на градиента плотности Lymphoplott («Sigma», Германия). Центрифугировали 30 минут при 1500 об/мин. Кольцо мононуклеаров переносили в пробирку, содержащую полную среду RPMI-1640 (10% ЭТС, 1% антибиотика, 1% глутамина) и двукратно отмывали центрифугированием. Полученные клетки ресуспендировали в среде Mesencult («StemCell», Канада), содержащей 10% ЭТС, 1% антибиотика и 1% глутамина.

Культивирование ММСК КМ

Клетки засевали в культуральные флаконы с газопроницаемыми крышками площадью дна 75 см². Через 24 часа производили смену культуральной среды для удаления неприкрепившихся клеток. В дальнейшем смену ½ объема среды производили каждые семь суток. По достижении культурами 70-80% конфлюэнтности, клетки снимали с поверхности культурального пластика с помощью трипсина/ЭДТА, после чего активность трипсина ингибировалась добавлением среды DMEM, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС); после двукратного отмывания центрифугированием клетки высевали в культуральные флаконы для получения первого пассажа. По достижении первым пассажем 75-90% конфлюэнтности, клетки пересевали для получения второго и третьего пассажей.

Морфологический анализ культур клеток

Культуры исследовали на универсальном инвертированном микроскопе Micros (Австрия) с применением фазового контраста (рис. 1).

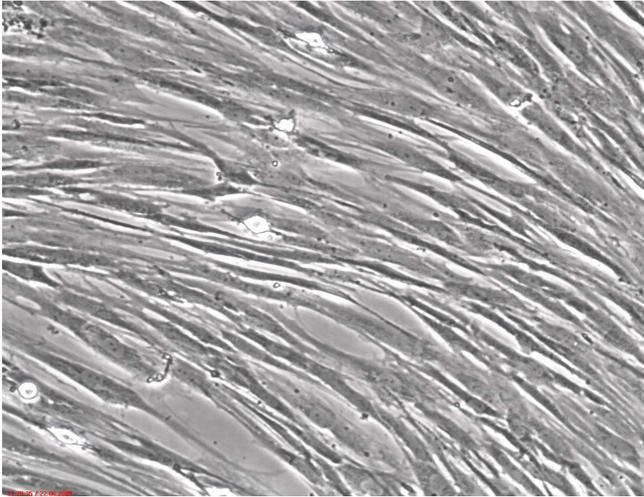


Рисунок 1. Монослой ММСК КМ

Определение жизнеспособности клеток

Жизнеспособность клеток определяли общепринятым методом по исключению трипанового синего. Для этого 20 мкл суспензии исследуемых клеток смешивали с 20 мкл 0,2% раствора трипанового синего («Serva», Германия), приготовленного на забуференном физиологическом растворе (pH 7,4) с добавлением 0,02% (от объема) азида натрия, и подсчитывали общее число и число живых клеток в камере Горяева.

Проточная цитофлуориметрия ММСК

Для определения фенотипа ММСК методом проточной цитофлуориметрии использовали следующую панель моноклональных антител (МКАТ): CD14, CD45 PC7, CD34 APC, CD105 PE, CD90 FITC (BeckmanCoulter). К суспензии клеток (0,5- 1 млн. клеток) добавляли МКАТ в объеме согласно прописи фирмы-производителя и 100 мкл PBS+1% BSA. Клетки инкубировали в темноте в течение 30 минут при температуре 4° С, после чего дважды отмывали PBS центрифугированием в режиме 1500 об/мин в течение 5 мин. Фиксацию проводили 1% параформальдегидом. Исследование выполнялось на проточном цитофлуориметре FACSCanto (Becton Dickinson), оснащенном двумя лазерами с длиной волны 488 нм и 630 нм, что позволяет одновременно характеризовать клетку по шести параметрам. Учет результатов проводился в рабочей программе FACS Diva. Для достоверности получаемых данных прибор калибровали по МКАТ, используемым при иммунофенотипировании ММСК, с учетом их высокой собственной флуоресценции. Для обсева образца загружали от 20000 до 30000 клеток. ММСК оценивали как CD45- CD34- CD90+ CD105+.

Рейнфузия ММСК

Пациентам устанавливали катетер (G16-18) в периферическую вену. Суспензию ММСК, полученную из лаборатории в 20 мл шприце предварительно встряхивали несколько раз (для предотвращения клеточных клампов) и вводили внутривенно медленно в течение 3-х минут. Мониторинг дыхания, гемодинамики и температуры продолжали не менее 2-х часов. Клиническое наблюдение продолжалось в течение последующих суток с обязательной термометрией вечером и утром, общий анализ мочи и крови выполняли утром следующих суток.

Статистическая обработка проводилась с использованием пакета программ Statistica-6. Использовались непараметрические методы при статистической обработке данных. Данные показаны как среднее, медиана. Достоверными считались результаты $p < 0.05$ (95%).

Результаты и их обсуждение

Забор КМ и выделение МНК

Аспирация КМ была выполнена у 20 пациентов с МЛУ/ШЛУ-ТБ, получено 45-85 мл аспириата КМ. Осложнений и побочных эффектов процедуры не наблюдалось. Выполнен дальнейший процессинг КМ с применением технологии сепарации моноклеарных

клеток (МНК) по градиенту плотности, в результате чего было выделено $180-750 \times 10^6$ МНК для дальнейших клеточных манипуляций (табл. 2).

Получение аутологичных костномозговых ММСК для АТ

Проведен посев выделенных МНК в среду для культивирования, в результате чего через 14 дней роста *in vitro* с 5-кратной сменой сред получена первичная культура ММСК из МНК всех 20 пациентов.

В результате экспансии ММСК в течение от 20 до 39 суток с проведением 3 пассажей был получен аутотрансплантат ММСК для 20 пациентов. В результате экспансии клеток в культуре количество ММСК на выходе в среднем составляло $68,1 \pm 8,0 \times 10^6$, что позволило получить трансплантат ММСК в среднем в дозе $1,2 \pm 0,2 \times 10^6/\text{кг}$.

Таблица 2

Объем костного мозга, количество МНК и основные характеристики ММСК пациентов с М/ШЛУ-ТБ *in vitro*

Пациент (n=14)	Объем КМ (мл)	МНК для экспансии $\times 10^6$	Срок культивирования (дни)	Число ММСК на выходе $\times 10^6$	ММСК/кг $\times 10^6$
1	70	360	21	100	1,80
2	60	180	30	71	1,00
3	60	400	29	11	0,20
4	56	190	33	70	1,10
5	60	380	20	67	1,03
6	50	450	32	92	1,20
7	70	320	22	63	0,95
8	80	440	35	65	0,80
9	80	270	39	46	1,00
10	70	500	36	51	0,60
11	55	400	30	58	1,10
12	60	750	39	51	1,16
13	55	260	36	110	1,70
14	75	270	27	98	1,15
15	60	195	29	70	1,03
16	45	380	33	67	1,20
17	70	450	22	98	0,95
18	80	330	32	68	0,87
19	85	440	22	69	1,08
20	70	280	35	46	0,68
M±SD	65,6±11,1	438±52	30(20;39)	68,1±8,0	1,2±0,16

Все полученные *in vitro* ММСК были морфологически однородны и имели фибробластоподобную форму (рис. 1) Все трансплантаты ММСК прошли бактериологический контроль на отсутствие бактериальной контаминации.

Имунофенотипический анализ трансплантата аутологичных недифференцированных ММСК после экспансии *in vitro* проводили после отмывки клеток перед введением пациенту. ММСК экспрессировали CD90 и CD105 маркеры, которые являются для них специфическими. Относительное количество позитивных клеток по иммунофенотипическим маркерам ММСК и интенсивности флуоресценции приведены в табл. 3.

Таблица 3

Показатели иммунофенотипического анализа трансплантата ММСК для пациентов с М/ШЛУ-ТБ (n=20)

Показатели иммунофенотипического анализа	Имунофенотипические маркеры ММСК	
	CD90	CD105

Позитивные клетки в образце (%)	91,6±5,5	89,1±4,8
---------------------------------	----------	----------

Клетки, экспрессирующие маркер CD90+, составляли 91,6±5,5 %, CD105+ - 89,1±4,8%.

В тоже время, количество клеток, несущих на своей поверхности антигены CD45, и CD34, являющиеся гемопоэтическими маркерами, составляло в каждом из полученных образцов ММСК менее 2%. Несмотря на высокое изначальное содержание клеток моноцитарного ростка, аутотрансплантат ММСК пациентов с туберкулезом содержит не более 2% клеток с иммунофенотипическим маркером CD14.

Жизнеспособность клеток в аутотрансплантате ММСК составляла 98% (95%-99%).

Реинфузия ММСК

Проведено 20 процедур реинфузии ММСК. Осложнений и побочных эффектов процедуры не наблюдалось.

Когортный анализ результатов лечения

В настоящее время сроки наблюдения пациентов с М/ШЛУ-ТБ составляют: 4-27 месяцев от начала протокола индивидуализированной химиотерапии (с учетом устойчивости/чувствительности МБТ к ПТП), и 3-26 месяцев после реинфузии ММСК в основной группе; и 8-28 месяцев от начала протокола индивидуализированной химиотерапии в контрольной группе пациентов.

Промежуточные результаты лечения и сравнительный анализ исследуемых групп пациентов представлен в табл. 4.

Таблица 4

Ранние результаты лечения пациентов с М/ШЛУ-ТБ

	Основная группа (ХТ+ММСК)	Контрольная группа (ХТ)	RR (95% CI)	p
Конверсия мокроты				
Посев				
6 мес. лечения	16/18 (89%)	12/20 (60%)	1,57 (1,08-2,29)	0,018
12 мес. лечения	13/14 (93%)	12/16 (75%)	1,24 (0,90- 1,70)	0,188
Рентгенологическая динамика				
Уменьшение очагов/инфильтрации				
6 мес. лечения	17/18 (94%)	15/20 (75%)	1,26 (0,95-1,66)	0,103
12 мес. лечения	14/14 (100%)	12/16 (75%)	1,31 (0,97-1,77)	0,074
Уменьшение полостей распада				
6 мес. лечения	14/14 (100%)	12/14 (86%)	1,16 (0,90-1,48)	0,235
12 мес. лечения	9/10 (90%)	8/12 (67%)	1,35 (0,86-2,12)	0,191

Примечание: ХТ – химиотерапия; ХТ+ММСК – химиотерапия с АТ ММСК.

При проведении сравнительного анализа промежуточных результатов лечения в исследуемых группах пациентов было выявлено, что пропорция конверсии мокроты методом посева через 6 месяцев была достоверно выше в основной группе (89% и 60%, p=0,018). Через 12 месяцев лечения количество пациентов прекративших бактериовыделение было также больше в основной группе. У пациентов основной группы наблюдалась также ускоренная положительная рентгенологическая динамика: уменьшение размеров очагов и инфильтрации через 6 месяцев – 94% и 75%; через 12 месяцев – 100% и 75%; уменьшение или закрытие полостей распада через 6 месяцев – 100% и 86%; через 12 месяцев 90% и 67% (в группе ММСК и группе сравнения соответственно).

Заключение

В соответствии с критериями включения и исключения, проведена селекция 40 пациентов с МЛУ/ШЛУ-ТБ. Сформированы основная (20 человек) и контрольная (20 человек) группы. Произведено 20 заборов КМ у пациентов основной группы, с последующим выделением МНК, культивированием и системной аутотрансплантацией ММСК.

В результате экспансии ММСК в течение 21 – 39 суток, с проведением 3 пассажей был получен аутотрансплантат ММСК для 20 пациентов в количестве клеток достаточном для реинфузии. При получении аутотрансплантата ММСК для пациентов с МЛУ/ШЛУ-ТБ использовали от 45 до 85 мл КМ, из которого было выделено в среднем $438 \pm 52 \times 10^6$ МНК. В результате экспансии клеток в культуре количество ММСК на выходе в среднем составляло $68,1 \pm 8,0 \times 10^6$, что позволило получить трансплантат ММСК в среднем в дозе $1,2 \pm 0,16 \times 10^6$ /кг для каждого пациента. Получение такого количества ММСК после 3 пассажей свидетельствует о высокой пролиферативной активности клеток и эффективности их для применения в качестве биотрансплантата для цитотерапии.

Все полученные *in vitro* ММСК были морфологически однородны и имели фибробластоподобную форму. Принадлежность культивированных клеток к ММСК подтверждали наличием иммунофенотипических маркеров.

Все трансплантаты ММСК прошли бактериологический контроль на отсутствие бактериальной контаминации.

При проведении реинфузии ММСК осложнений и побочных эффектов не наблюдалось.

При проведении сравнительного анализа промежуточных результатов лечения в исследуемых группах пациентов было выявлено, что пропорция конверсии мокроты методом посева через 6 месяцев была достоверно выше в основной группе (89% и 60%, $p=0,018$). Через 12 месяцев лечения количество пациентов прекративших бактериовыделение было также больше в основной группе. У пациентов основной группы наблюдалась также ускоренная положительная рентгенологическая динамика: уменьшение размеров очагов и инфильтрации через 6 месяцев – 94% и 75%; через 12 месяцев – 100% и 75%; уменьшение или закрытие полостей распада через 6 месяцев – 100% и 86%; через 12 месяцев 90% и 67% (в группе ММСК и группе сравнения соответственно).

Литература

1. 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.
2. Skrahina, A. Alarming levels of drug-resistant tuberculosis in Belarus: results of a survey in Minsk / A. Skrahina, H. Hurevich, A. Zalutskaya [et al.] // ERJ Express. – 2011, October 20, as doi: 10.1183/09031936.00145411.
3. Alena Skrahina, Henadz Hurevich, Aksana Zalutskaya, Evgeni Sahalchyk, Andrei Astrauko, Sven Hoffner, Valiantsin Rusovich, Andrei Dadu, Pierpaolo de Colombani, Masoud Dara, Wayne van Gemert, Matteo Zignol / Multidrug-resistant tuberculosis in Belarus: the size of the problem and associated risk factors //Bulletin of the World Health Organization 2013;91:36-45. doi: 10.2471/BLT.12.104588.
4. Condos, R. Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon-gamma via aerosol / R. Condos, W.N. Rom, N.W. Schluger // Lancet. – 1997. – Vol. 349. – 1513–5.
5. Use of adjunctive treatment with interferon-gamma in immunocompromised patients who had refractory multidrug-resistant tuberculosis of the brain / I. Raad [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 1996. – Vol. 22. – P. 572–4.
6. RhuIL-2 adjunctive therapy in multidrug resistant tuberculosis: a comparison two regimens and placebo / B.J. Jonson [et al.] // Tuberc. Lung. Dis. – 1997. – Vol. 78. – P. 195–203.
7. Получение и использование в медицине клеточных культур из мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека / А.Ф. Цыб [и др.] // Вестник РАМН. – 2004. – Т. 59, № 9. – С. 71–76.

8. Mesenchymal stem cell engraftment in lungs is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects / L.A. Ortiz [et al.] // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol. 100, № 14. – P. 8407–11.
9. Ярыгин, В.Н. Тканевые клеточные системы – основа биомедицинских клеточных технологий нового поколения: контуры идеологии / В.Н. Ярыгин // Вестник РАМН. – 2004. – Т. 59, № 9. – С. 12–19.
10. Korbiling, M. Adult stem cells for tissue repair – a new therapeutic concept? / M. Korbiling, Z. Estrov // N. Engl. J. Med. – 2003. – Vol. 349. – P. 570–82.
11. Клеточные технологии в терапии хронического мультирезистентного туберкулеза легких / В.В. Ерохин [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2006. – № 8. – С. 3–5.
12. 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.
13. 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.
14. Identification of a bone marrow-derived epithelial-like population capable of repopulating injured mouse airway epithelium / A.P. Wong [et al.] // J. Clin. Invest. – 2009. – Vol. 119. – P. 336–348.
15. Neuringer, I.P. Stem cells and repair of lung injuries / I.P. Neuringer, S.H. Randell // Respiratory Research. – 2004. – Vol. 5. – P. 6.
16. Dominici, M. Minimal criteria for definition multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Muller // Cytotherapy. – 2006. – Vol. 8, No 4. – 315–317.
17. 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.
18. 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 USA. – 2003. – Vol. 100. – P. 8407–8411.

Аутологичная трансплантация мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при туберкулезе легких с множественной и широкой лекарственной устойчивостью

А.Е. Скрягин, В.В. Солодовникова, Я.И. Исайкина, Г.Л. Гуревич,
М.И. Дюсмикеева, З.И. Рогова, А.А. Широкин,
Д.А. Ветушко, Д.Г. Печинский, Е.М. Скрягина

Резюме

Ключевые слова: туберкулез легких, множественная и широкая лекарственная устойчивость, аутологичная трансплантация, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки.

При проведении сравнительного анализа результатов лечения было выявлено, что у пациентов с аутологичной трансплантацией мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток через 6 месяцев лечения была достоверно выше пропорция конверсии мокроты методом посева, через 12 месяцев лечения было больше количество пациентов, прекративших бактериовыделение, наблюдалась ускоренная положительная рентгенологическая динамика: уменьшение размеров очагов и инфильтрации, уменьшение или закрытие полостей распада.

Autologous transplantation of multipotent mesenchymal stromal cells for tuberculosis with multidrug and extensively drug resistance

A.E. Skrahin, V.V. Solodovnikova, J.I. Isaikina, A. M. Skrahina,
Z.I. Rohava, M.I. Dziusmikeyeva, D.A. Vetushko, L.I. Metelitsa

Abstract

Key words: pulmonary tuberculosis, multidrug and extensively drug resistance, autologous transplantation, multipotent mesenchymal stromal cells.

In comparative analysis of the results of treatment it was revealed that patients with autologous transplantation of multipotent mesenchymal stromal cells after 6 months of treatment has significantly higher proportion of sputum conversion by culture, after 12 months of treatment it was greater number of patients who discontinued bacterial excretion, the observed acceleration of the positive dynamics of the X-ray: reducing the size of lesions and infiltration, reducing or closing of cavities.