

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОБОНЯТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ТЯЖЕЛОМ ТЕЧЕНИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

*¹Панкратова Ю.Ю., ¹Алексейчик С.Е., ²Гончаров А.Е., ²Антоневич Н.Г.,
³Протасевич Д.В., ³Макаренко К.Б.*

*¹Учреждение образования «Белорусский государственный
медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь*

*²Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,
г. Минск, Республика Беларусь*

*³Учреждение здравоохранения «10-я городская клиническая больница»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Вспышка коронавирусной инфекции COVID-19 была впервые зарегистрирована 31 декабря 2019 г. в Китае, в г. Ухань. А в марте 2020 г. Всемирная организация здравоохранения объявила пандемию COVID-19, вызванную РНК-вирусом SARS-CoV-2. Было доказано, что для данной патологии характерны генерализация инфекционного процесса при высокой продукции провоспалительных цитокинов, хемокинов и развитие цитокинового шторма. Стало известно, что именно гипериммунный ответ, а не только действие самого вируса лежит в основе поражения легких и летальности при COVID-19. Поэтому особое внимание при лечении тяжелой коронавирусной инфекции привлекли эффекты, получаемые при проведении «противоревматической» терапии. К этому времени было изучено, что мезенхимальные стволовые клетки (МСК) оказывают иммуносупрессивный эффект в отношении практически всех типов иммунокомпетентных клеток: Т- и В-лимфоцитов, натуральных киллеров, моноцитов и макрофагов, дендритных клеток, нейтрофилов, а также обладают способностью стимулировать регенерацию тканей за счет продукции широкого спектра цитокинов и ростовых факторов (паракринный и трофический эффекты). В разных странах мира, включая Беларусь, были запущены исследования по применению МСК при тяжелом течении коронавирусной инфекции.

Цель. Оценка безопасности и переносимости биомедицинского клеточного продукта (БКМП) на основе пулированных МСК (пулМСК) в комплексном лечении тяжелой коронавирусной инфекции.

Материалы и методы. В исследование было включено 14 пациентов с диагнозом COVID-19, осложненным развитием острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) (7 мужчин и 7 женщин). Диагноз подтверждался путем проведения ПЦР. Объем поражения легких устанавливался при помощи компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК). При невозможности проведения исследования в связи с потребностью в высокопоточной кислородотерапии – при помощи обзорной рентгенографии ОГК. Средний возраст пациентов составил 61 ± 12 лет. БКМП на основе пулМСК представляли собой смесь 3 культур МСК обонятельной выстилки (ОВ), полученных из слизистой среднего носового хода здоровых добровольцев. Образцы ОВ механически измельчали и культивировали до достижения конфлюэнтности монослоя. Полученную биомассу клеток накапливали на протяжении 1–2 пассажей. На 3-м пассаже производили пулирование 3 монокультур от разных доноров в равном соотношении (1:1:1). Накапливали биомассу пулМСК на протяжении 3–6 пассажей. На каждом этапе производства клетки проходили контроль жизнеспособности ($>95\%$), подлинности ($CD90^+CD105^+CD73^+CD45^-$), микробиологической и вирусологической чистоты. Полученный БКМП в дозе 1 миллион клеток на кг массы тела вводили внутривенно капельно в 100 мл физиологического раствора в течение 60 минут после проведения предварительной биопробы.

Результаты. В день проведения инфузии БКМП осуществляли осмотр пациента с измерением артериального давления, пульса, частоты сердечных сокращений, частоты дыхания, температуры, сатурации кислорода. Уточняли наличие и характер имеющихся жалоб. Пациент сдавал общие анализы крови и мочи, биохимический анализ крови, коагулограмму. Было выполнено 18 инфузий 14 пациентам; 4 пациентам было проведено двукратное введение пулМСК с интервалом 3–5 дней, а 10 пациентов получили 1 дозу. В начале инфузии и через пять минут проводилось измерение артериального давления, пульса, частоты сердечных сокращений, частоты дыхания, температуры. Уточнялось появление неприятных ощущений и других жалоб. Такие же измерения и оценка состояния пациента проводились по окончании инфузии спустя 30, 60 минут и далее каждые три часа до отхода пациента ко сну. На следующее утро пациент также осматривался врачом-исследователем. Оценивалось общее состояние пациента, проводились повторные лабораторные исследования.

Анализ клинических наблюдений в совокупности с результатами динамического лабораторного обследования 14 пациентов указал на хоро-

шую переносимость и безопасность внутривенного применения БМКП на основе пулМСК у пациентов с тяжелыми внебольничными пневмониями, вызванными вирусом SARS-CoV-2 и осложненными ОРДС. У всех пациентов отсутствовали кожные аллергические реакции. Введение пулМСК осуществлялось как «терапия отчаяния» после неэффективного лечения глюкокортикостероидами (ГКС) (n=14) и тоцилизумабом (n=12) согласно действующему во время исследований приказу МЗ РБ №1106 от 20.10.2020. В результате оценки клинической эффективности метода клеточной терапии у 64% пациентов группы исследования получены хорошие краткосрочные результаты, проявившиеся в субъективном улучшении самочувствия через 30–60 мин – 1–2 дня после введения пулМСК («прояснение в голове»). Наблюдались улучшение сатурации кислорода от незначительного прироста на 1–2% при той же кислородной поддержке (43%) до существенного снижения потребности в кислороде, которое позволяло уменьшить скорость потока подачи O₂ на 2–5 л/мин (21%). Другие объективные показатели существенно не менялись. Анализ лабораторных показателей через сутки после введения пулМСК выявил снижение С-реактивного белка, фибриногена у 8 пациентов. В последующем, при исследовании КЩС у них отмечался рост парциального давления кислорода (PO₂) (n=10; H=3; z=2,5; p=0,013) и сатурации кислорода (n=10; H=6; z=2,19; p=0,03).

В долгосрочной перспективе у 6 пациентов наметилась стойкая положительная клиническая и лабораторная динамика. У данных пациентов лечение стволовыми клетками оказалось эффективным для подавления гипериммунного синдрома, стабилизировало сатурацию кислорода и уменьшало интоксикацию. У пациентов с последующим ускользанием или отсутствием эффекта имелась сопутствующая патология (не менее 4 тяжелых заболеваний, таких как ожирение со стеатогепатитом, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, сахарный диабет, хроническая болезнь почек), а потребность в кислороде обеспечивалась проведением неинвазивной искусственной вентиляции легких. По нашему мнению, терапия пулМСК должна применяться для предупреждения развития цитокинового шторма, на ранних стадиях ОРДС.

Выводы. Анализ клинических наблюдений за пациентами в совокупности с результатами динамического лабораторного обследования позволяет сделать вывод о хорошей переносимости и безопасности лечения с использованием пулМСК тяжелых форм коронавирусной инфекции, осложненных ОРДС. Оптимальные сроки применения МСК требуют дальнейшего изучения.