

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ



УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

«07» сентября 2018 г.

Регистрационный № 094-0918

**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ НЕИШЕМИЧЕСКИХ
КАРДИОМИОПАТИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНЫХ
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Кардиология»

АВТОРЫ: к.м.н., доцент Курлянская Е.К., к.м.н. Полонецкий О.Л., Денисевич Т.Л., Ильина Т.В., Шатова О.Г., Нижникова О.Г., Троянова-Щуцкая Т.А.

Минск, 2018

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ЛЖ	- левый желудочек
МНК	- моноклеарные клетки
МРТ	- магнитно-резонансная томография
МСК	- мезенхимальные стволовые клетки
ХСН	- хроническая сердечная недостаточность
ЭМК	- электромеханическое картирование
Эхо-КТ	- эхокардиография

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод лечения неишемической кардиомиопатии с использованием интрамиокардиальных инъекций мезенхимальных стволовых клеток (МСК), который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение пациентов с кардиомиопатией неишемического генеза. Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначен для врачей-кардиологов, врачей-терапевтов и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с неишемическими кардиомиопатиями в стационарных условиях.

1. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Неишемические кардиомиопатии (I 42) с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) II.

2. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ

Острое нарушение мозгового кровообращения (I 63).

Злокачественное новообразование (C00-C97).

Митральная регургитация IV степени (I 34).

Трикуспидальная регургитация IV степени (I 36.1)

3. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Фракция выброса левого желудочка (ЛЖ) $\leq 40\%$.

Наличие у пациента имплантированного электрокардиостимулятора.

4. ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, МАТЕРИАЛОВ, БИМЕДИЦИНСКИЙ КЛЕТОЧНЫЙ ПРОДУКТ И Т.Д.

1. Медицинские изделия для проведения эхокардиографического исследования (ЭхоКГ) с методикой 2Dspeckle-trackingstrain.

2. Медицинские изделия для проведения магнитно-резонансной томографии (МРТ) сердца с отсроченным контрастированием миокарда парамагнитным контрастным агентом гадолинием (Гд).

3. Медицинские изделия для проведения транскатетерного электромеханического картирования (ЭМК) миокарда для определения предполагаемых зон для введения.

4. Инструменты и расходные материалы для забора пунктата костного мозга и миокардиальной реинфузии МСК: игла для костно-мозговой пункции, вакутайнеры по 10 мл с сухим гепарином, местный анестетик, шприцы по 1 мл со съёмными иглами (G29-31).

5. Медицинские изделия и расходные материалы для выделения МСК из костного мозга и их культивирования, проведения иммунофенотипического анализа МСК: Гистопак 1,077 для выделения мононуклеарных клеток (МНК) из костного мозга методом разделения клеток по градиенту плотности; среда IMDM, содержащая 10% эмбриональную телячью сыворотку 2 мМ/л L-глутамин и 10^{-4} М/л 2-меркаптоэтанола; адгезивные пластиковые флаконы с площадью дна 175см^2 для культивирования МСК; пипетки серологические — 10 и 25 мл; пробирки центрифужные — 15 и 50 мл; центрифуга; 0,25% трипсин-ЭДТА; 0,9% раствор натрия хлорида; ламинарный шкаф 2-го класса защиты для проведения культуральных работ по получению МСК; CO₂-инкубатор для роста культуры МСК, проточный цитофлуориметр, наборы моноклональных антител (CD105, CD90, CD44, CD45+, CD34, CD14).

5. ТЕХНОЛОГИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1 Этап. Определение оптимальных зон для введения МСК.

1. Выполнить ЭхоКГ с определением следующих показателей:

- степень митральной и трикуспидальной регургитации;
- ФВ ЛЖ;
- продольная деформация в сегментах миокарда ЛЖ (%).

3. Выполнить МРТ с определением следующих показателей:

- тип локальной сократимости в сегментах миокарда ЛЖ (нормокинез, гипокинез, дискинез, акинез);
- толщина миокарда ЛЖ в систолу (мм);
- толщина миокарда ЛЖ в диастолу (мм).

4. На основании полученных данных определить оптимальные зоны для последующего введения МСК: сегменты с дискинезом или акинезом со значениями толщины миокарда ЛЖ в систолу ≥ 6 мм, в диастолу ≥ 4 мм, продольной деформации миокарда ЛЖ $\leq -7\%$.

2 Этап. Получение биомедицинского клеточного продукта МСК.

Получить биомедицинский клеточный продукт МСК из костного мозга пациента:

1. Осуществить забор костного мозга в асептических условиях под местной анестезией за 20-30 суток до срока проведения имплантации МСК. Из одного или нескольких проколов гребня подвздошной кости под локальной анестезией провести аспирацию 80–100 мл костного мозга. Аспират костного мозга поместить в 10 - миллиметровые вакуутайнеры с сухим гепарином и транспортировать в лабораторию в течение не более 2-3 часов.

2. Выделить МНК из костного мозга на градиенте плотности Гистопак 1,077 центрифугированием.

3. Выделить популяцию МСК из МНК костного мозга методом адгезии на пластике флакона с последующим культивированием клеток в среде IMDM в концентрации $2 - 3 \times 10^6$ клеток/мл.

4. Провести экспансию МСК путем проведения 2-3 пассажей клеток.

5. Выполнить подсчет клеток под микроскопом. Получить МСК в количестве не менее 40×10^6 клеток. Развести МСК в 4-5 мл физиологического раствора с заполнением в 4 мл шприцы для дальнейшего введения пациенту. Срок приготовления МСК- 2-4 ч. до введения.

6. Идентифицировать полученные *in vitro* МСК по наличию поверхностных маркеров CD105, CD90, CD73. БМКП должен содержать не менее 90% клеток с маркерами CD105, CD90, CD73 и менее 2% с маркерами гемопоэтических клеток CD45, CD34, CD14.

7. Определить жизнеспособность клеток стандартным методом по включению трипанового синего. Жизнеспособность МСК должна быть не менее 95%.

8. Исследовать МСК на стерильность. Для инфузии пациенту применяются только МСК с отрицательными показателями по всему спектру возможной бактериальной и вирусной контаминации.

Для применения может быть использован биомедицинский клеточный продукт МСК костного мозга человека, полученный согласно утвержденным Министерством здравоохранения РБ техническим условиям (ТУ ВУ 600395123.001-2014) по его производству и отвечающий органолептическим, цитологическим параметрам и показателям микробиологической чистоты.

3 Этап.

Выполнить ЭМКс определением линейного локального сокращения (%) и вольтажа униполярного электрода (мВ). На основании полученных данных определить зоны для введения МСК: сегменты миокарда с дискинезом или акинезом с вольтажем униполярного электрода $\geq 8,7$ мВ и значениями линейного локального сокращения $\geq 5\%$.

4 Этап.

Выполнить 15-20 интрамиокардиальных инъекций по 0,1 мл при помощи катетера NOGA STAR в зоны сегментов миокарда, определенных для имплантации МСК (Приложение).

6. ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ

Нет.

Приложение к инструкции по применению
«Метод лечения ишемических кардиомиопатий с использованием
аутологичных мезенхимальных стволовых клеток»

**Параметры сегментов миокарда левого желудочка для
интрамиокардиального введения мезенхимальных стволовых клеток**

Метод исследования	Показатель	Значение показателя
ЭхоКГ	Продольная деформация миокарда ЛЖ	$\leq -7 \%$
МРТ	Тип локальной сократимости в сегменте	Акинез или дискинез
	Толщина миокарда ЛЖ в систолу	≥ 6 мм
	Толщина миокарда ЛЖ в диастолу	≥ 4 мм
ЭМК	Линейное локальное сокращение (LLS)	$\geq 5\%$
	Вольтаж униполярного электрода	$\geq 8,7$ мВ