

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ



УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневич

«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

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Д. Л. Пиневиц

07.09.2018

Регистрационный № 094-0918

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

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-практический
центр “Кардиология”»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. Е. К. Курлянская, канд. мед. наук
О. Л. Полонецкий, Т. Л. Денисевич, Т. В. Ильина, О. Г. Шатова, О. Г. Нижникова,
Т. А. Троянова-Щуцкая

Минск 2018

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

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

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод лечения неишемической кардиомиопатии с использованием интрамиокардиальных инъекций мезенхимальных стволовых клеток, 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.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Медицинские изделия для эхокардиографического исследования с методикой 2Dspeckle-trackingstrain.

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

3. Медицинские изделия для транскатетерного электромеханического картирования (ЭМК) миокарда для определения предполагаемых зон 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 съемными иглами (G29-31).

5. Медицинские изделия и расходные материалы для выделения МСК из костного мозга и их культивирования, иммунофенотипического анализа МСК: Гистопак 1,077 для выделения моноклеарных клеток 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-меркаптоэтанол; адгезивные пластиковые флаконы с площадью дна 175 см² 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 культуральных работ по получению МСК; CO₂-инкубатор для роста культуры МСК; проточный цитофлуориметр, наборы моноклональных антител (CD105, CD90, CD44, CD45+, CD34, CD14).

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Неишемическая кардиомиопатия (I 42) с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) III.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Острое нарушение мозгового кровообращения (I 63).

Злокачественное новообразование (C00-C97).

Митральная регургитация IV степени (I 34).

Трикуспидальная регургитация IV степени (I 36.1)

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Фракция выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) ≤ 40 %.

Наличие у пациента имплантированного электрокардиостимулятора.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1-й 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 (%).

2. Выполнить МРТ с определением следующих показателей:

- тип локальной сократимости в сегментах миокарда ЛЖ (нормо-, гипо-, дис-, акинез);

- толщина миокарда ЛЖ в систолу (мм);

- толщина миокарда ЛЖ в диастолу (мм).

3. На основании полученных данных определить оптимальные зоны для последующего введения МСК: сегменты с дис- или акинезом с толщиной миокарда ЛЖ в систолу ≥ 6 мм, в диастолу ≥ 4 мм; продольной деформации миокарда ЛЖ ≤ -7 %.

2-й 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 сут до срока проведения имплантации МСК. Из одного или нескольких проколов гребня подвздошной кости под локальной анестезией произвести аспирацию 80–100 мл костного мозга. Аспират костного мозга поместить в 10-миллиметровые вакутайнеры с сухим гепарином и транспортировать в лабораторию в течение не более 2–3 ч.

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 выполнения 2–3 пассажей клеток.

5. Определить числа 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-миллиметровые 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. Биомедицинский клеточный продукт 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 исключению 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-й этап

Выполнить ЭМК с 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 ≥ 5 %.

4-й этап

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

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Отсутствуют.

**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