

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

2017 г.



Регистрационный № 096-1117

**МЕТОД ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ
КАРДИОМИОПАТИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Кардиология»

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии»

АВТОРЫ:

Академик НАН Беларуси Ю.П.Островский, А.А. Комаровский, И.И. Гринчук, Е.Г. Комаровская, Т.Т. Геворкян, Т.В. Курушко, канд. биол. наук Я.И. Исайкина, А.А. Жерносеченко

Минск, 2017

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Д.Л. Пиневиц
01.12.2017
Регистрационный № 096-1117

**МЕТОД ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ
КАРДИОМИОПАТИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-практический центр “Кардиология”», ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, проф., акад. НАН Беларуси Ю.П. Островский, А.А. Комаровский, И.И. Гринчук, Е.Г. Комаровская, Т.Т. Геворкян, Т.В. Курушко, канд. биол. наук Я.И. Исайкина, А.А. Жерносеченко

Минск 2017

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

PISAERO — эффективная площадь отверстия регургитации, рассчитанная по проксимальной конвергенции потока регургитации

АКШ — аортокоронарное шунтирование

БМКП — биомедицинский клеточный продукт

ИБС — ишемическая болезнь сердца

ИКМП — ишемическая кардиомиопатия

ЛЖ — левый желудочек

МРТ — магнитно-резонансная томография

МСК — мезенхимальные стволовые клетки

ОФЭКТ — однофотонная эмиссионная компьютерная томография

ЭКС — электрокардиостимулятор

ЭхоКГ — эхокардиография

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод хирургического лечения ИКМП с миокардиальной имплантацией МСК. Инструкция предназначена для врачей-кардиохирургов, врачей-кардиологов, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, в которых выполняются операции на открытом сердце пациентам с ИБС.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Оборудование и инструментарий для ЭхоКГ для количественной оценки митральной и трикуспидальной регургитации (PIZA ERO, vena contracta, глубина кооптации, диаметр кольца), структурных изменений миокарда ЛЖ.

2. Оборудование и инструментарий для проведения МРТ сердца с отсроченным контрастированием миокарда парамагнитным контрастным агентом гадолинием (Гд).

3. Оборудование и инструментарий для проведения ОФЭКТ с оценкой распределения в нем внутривенно введенного технеция-99m (99 mTc).

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. Оборудование и расходные материалы для выделения МСК из костного мозга и их культивирования, 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 (ЭТС) 2 мМ/л L-глутамин и 10^{-4} М/л 2-меркаптоэтанол; культуральные флаконы на 175 см² для роста МСК; пипетки серологические — 10 и 25 мл; пробирки центрифужные — 15 и 50 мл; центрифуга; 0,25 % трипсин-ЭДТА; 0,9 % раствор хлорида натрия; ламинарный шкаф 2-го класса защиты для культуральных работ по получению МСК; СО₂-инкубатор для роста культуры МСК, проточный цитофлуориметр, наборы моноклональных антител (CD105, CD90, CD44, CD45+, CD34, CD14).

6. Оборудование и инструментарий для проведения хирургических операций АКШ и коррекции функциональной атриовентрикулярной недостаточности.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Ишемическая кардиомиопатия.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

- нарушения мозгового кровообращения;
- злокачественное новообразование;
- декомпенсированный сахарный диабет, васкулиты, мультифокальный атеросклероз.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- выраженное ожирение (толщина жировой прослойки в области пункции более 5 см);
- наличие у пациента имплантированного ЭКС.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1 этап — получение биомедицинского клеточного продукта МСК из костного мозга пациента:

1. Забор костного мозга в асептических условиях под местной анестезией. 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 вакутайнеры с сухим гепарином и транспортировать в лабораторию за 20–30 сут до срока имплантации МСК.

2. Выделение МНК из костного мозга на градиенте плотности Фиколл-1077 гистопаке центрифугированием.

3. Выделение популяции 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. Экспансия МСК путем проведения 2–3 пассажей клеток.

5. Подсчет клеток под микроскопом. Получение МСК в количестве не менее 40×10^6 клеток/мл.

6. Разведение МСК в 4–5 мл физиологического раствора с заполнением в 1 мл шприца для дальнейшего введения пациенту. Срок приготовления МСК составляет 2–4 ч до введения.

7. Идентификация полученных *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.

8. Определение жизнеспособности клеток по методике с трипановым синим. Жизнеспособность МСК должна быть не менее 95 %.

9. Исследование 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 техническим условиям (ТУ ВУ 600395123,001-2014) по его производству и отвечающий следующим органолептическим, цитологическим параметрам и показателям микробиологической чистоты:

Наименование показателя	Характеристика и норма
Внешний вид	Однородная суспензия беловатого цвета без посторонних включений
Количество клеток, клеток/мл, не менее	2×10^6
Количество жизнеспособных клеток, %, не менее	90
Подлинность клеток (иммунофенотип клеток)	CD90+, CD 105+, CD73+ >90 % CD34, CD45, CD14 <2 %
Стерильность	Стерильно

2 этап — хирургическое лечение:

Провести АКШ в сочетании или без коррекции атриовентрикулярных клапанов.

3 этап — имплантация БМКП аутологичных МСК:

МСК, набранные в инсулиновые шприцы объемом 1 мл со съемными иглами G 28-31, ввести непосредственно в миокард под углом 45° к эпикарду, в объеме 0,2 мл/точка, по всей зоне жизнеспособного миокарда на основании диагностических методов обследования (ЭхоКГ, МРТ, ОФЭКТ):

- наличие зон с распространенностью фиброза в свободной стенке ЛЖ не более 75 % по данным МРТ;
- накопление контрастного вещества в свободной стенке ЛЖ более 40 % по данным ОФЭКТ;
- толщина мышечной стенки в зонах предполагаемой имплантации МСК более 4 мм.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Отсутствует.