

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

2016 г.

Регистрационный № 103-1116



**МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ И МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ
ДЕТЕЙ С ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», учреждение здравоохранения «Минский городской центр медицинской реабилитации детей с психоневрологическими заболеваниями»

АВТОРЫ: к.м.н., доцент Шалькевич Л.В., д.м.н., профессор, член-корреспондент НАН Беларуси Алейникова О.В., к.б.н. Исайкина Я.И., Яковлев А.Н., Тришина Ю.В., Остроушко Д.В., Гущина Л.М.

Минск, 2016

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Д.Л. Пиневиц
25.11.2016
Регистрационный № 103-1116

**МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ И МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ДЕТЕЙ
С ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», УЗ «Минский городской центр медицинской реабилитации детей с психоневрологическими заболеваниями»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. Л.В. Шалькевич, д-р мед. наук, проф., чл.-корр. НАН Беларуси О.В. Алейникова, канд. биол. наук Я.И. Исайкина, А.Н. Яковлев, Ю.В. Тришина, Д.В. Остроушко, Л.М. Гущина

Минск 2016

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкции) изложены методы лечения и медицинской реабилитации детей с детским церебральным параличом с использованием двухэтапной трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток. Метод может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение пациентов с детским церебральным параличом.

Инструкция предназначена для врачей-неврологов, врачей лабораторной диагностики, врачей-реабилитологов и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с детским церебральным параличом.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Иглы для костномозговой пункции G14-G17.
2. Шприцы 20–60 мл.
3. Пробирки гепаринизированные на 10 мл.
4. Растворы для обработки операционного поля, стерильное белье.
5. Проточной цитофлуориметр.
6. Наборы моноклональных антител для определения поверхностных клеточных маркеров CD105, CD90, CD73, CD45, CD14, CD34.
7. Ламинарный шкаф 2-го класса защиты для культуральных работ по получению биомедицинского клеточного продукта мезенхимальных стволовых клеток (МСК).
8. CO₂-инкубатор для роста культуры МСК.
9. Центрифуга.
10. Микроскоп инвертированный.
11. Культуральные флаконы на 175 см² для роста МСК.
12. Пробирки центрифужные на 15 и 50 мл.
13. Камера Горяева.
14. Среда Дюльбекко в модификации Искова (IMDM).
15. Эмбриональная телячья сыворотка (ЭТС).
16. Раствор трипанового синего 0,2%.
17. Гистопак-1077.
18. 0,25% трипсин-ЕДТА.
19. 0,9% раствор NaCl.
20. Парафин.
21. Озокерит.
22. Устройство для разогрева парафина и озокерита.
23. Термостат.
24. Металлические лотки для изготовления парафин-озокеритовых аппликаций.
25. Аппарат для низкочастотной электротерапии.
26. Фланелевые графитизированные электроды.
27. Раздвоенный кабель пациента.
28. Гидромассажная ванна.

29. Массажная кушетка.

30. Тренировочный и спортивный инвентарь: гимнастические валики, мячи, палки, обручи, утяжелители, гантели.

31. Оборудование для механотерапии: степпер, беговая дорожка, велотренажер.

32. Оборудование для лечения положением: лонгеты, тьютора, утяжелители, валики.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

G80.0 — детский церебральный паралич, спастический церебральный паралич;

G80.1 — детский церебральный паралич, спастическая диплегия;

G80.2 — детский церебральный паралич, детская гемиплегия;

G80.4 — детский церебральный паралич, атактическая форма.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Острые воспалительные процессы в организме.

2. Лихорадочные состояния.

3. Злокачественные новообразования.

4. Почечная, печеночная и сердечно-легочная недостаточность.

5. Декомпенсированный сахарный диабет.

6. Симптоматическая эпилепсия и судорожные состояния.

7. Генетическая патология в основе двигательных нарушений.

8. Грубые нарушения интеллектуально-мнестических функций.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Этап 1 — получение биомедицинского клеточного продукта, содержащего аллогенные МСК

1.1. Эксфузия костного мозга в объеме 50–80 мл у донора посредством костномозговой пункции крыла подвздошной кости под региональной анестезией за 30 сут до трансплантации МСК.

1.2. Транспортировка костного мозга пациента в специализированную лабораторию клеточной биотехнологии (срок доставки — не более 2 ч после пункции костного мозга).

1.3. Получение трансплантата МСК:

1.3.1. Выделение фракции моноклеарных клеток из костного мозга в градиенте плотности раствора Гистопак-1077 путем наслоения костного мозга на Гистопак-1077 (соотношение 3:1) и последующего центрифугирования при 200g в течение 30 мин.

1.3.2. Отмывка выделенных моноклеарных клеток в среде IMDM с последующим центрифугированием при 400g в течение 10 мин.

1.3.3. Культивирование моноклеарных клеток в полной среде IMDM с добавлением 10% ЭТС в концентрации 3×10^6 /мл во флаконах для культивирования при 37°C и 5% CO₂ во влажной атмосфере.

1.3.4. При достижении прикрепленными клетками 80–90% покрытия поверхности флакона выделение популяции МСК путем обработки клеток 0,25% трипсин-ЕДТА в течение 5 мин с последующим переносом в среду IMDM с добавлением 10% ЭТС.

1.3.5. Подсчет выделенных МСК в камере Горяева и пересев клеток в количестве 1×10^6 в новые культуральные флаконы 175 см² (1-й пассаж).

1.3.6. Культивирование МСК с проведением 2–3 пассажей до достижения суммарного количества МСК не менее 1×10^6 на килограмм веса пациента.

1.3.7. Двукратная отмывка МСК в 0,9% NaCl с последующим центрифугированием при 400g в течение 5 мин и удалением надосадочной жидкости.

1.3.8. Добавление к клеточному осадку 0,9% NaCl для получения 15–20 мл суспензии для внутривенного введения или 3 мл для интратекального введения.

1.3.9. Идентификация полученных в культуре МСК на подлинность методом проточной цитофлуориметрии путем определения поверхностных маркеров CD105, CD90, CD73, CD45, CD14, CD34.

1.3.10. Анализ количества МСК и их жизнеспособности путем подсчета в камере Горяева с использованием 0,2% раствора трипанового синего.

1.3.11. Исследование полученного клеточного продукта МСК на стерильность по всему спектру возможной бактериальной и вирусной контаминации.

Мероприятия 1.3.1–1.3.11 этапа 1 осуществляются согласно общепринятым методикам.

Для дальнейшего применения используется биомедицинский клеточный продукт «Клетки мезенхимальные стволовые костного мозга человека» (ТУ ВУ 600395123.001-2014, рег. номер БК-7.4-1508) или аналогичный биомедицинский клеточный продукт, полученный согласно данной инструкции и отвечающий следующим цитологическим, иммунофенотипическим параметрам и показателям микробиологической чистоты (таблица):

Таблица — Параметры и показатели микробиологической чистоты

Наименование показателя	Характеристика и норма
Количество клеток, к/мл, не менее	2×10^6
Количество жизнеспособных клеток, %, не менее	90
Подлинность клеток (иммунофенотип клеток)	CD 90, CD 105, CD73 >90% CD 34, CD 45, CD14 <2%
Стерильность	Стерильно

Этап 2 — аллотрансплантация МСК внутривенно

2.1. Проведение пациенту премедикации (клемастин 0,025 мг/кг веса внутривенно медленно за 30 мин до введения МСК).

2.2. Введение пациенту 15–20 мл МСК в 20 мл 0,9% NaCl в дозе не менее 1×10^6 /кг внутривенно в течение 10 мин со скоростью 60 мл/ч.

Этап 3 — трансплантация МСК эндолумбально через 6–7 сут после внутривенного введения клеток

3.1. Эндолумбальное введение МСК проводят под внутривенной анестезией в положении пациента на боку.

3.2. Обработка кожи пациента антисептиком на уровне позвонков L3–L4 и последующее проведение прокола стерильной пункционной иглой в промежутке между остистыми отростками позвонков L3–L4. После попадания в субарахноидальное пространство происходит забор 6 мл спинномозговой жидкости.

3.3. Введение суспензии МСК в количестве $2-6 \times 10^6$ клеток в 3 мл NaCl медленно, в течение 1 мин.

3.4. Транспортировка пациента в палату на каталке в положении лежа. Положение пациента на кровати должно оставаться лежа на животе с приподнятыми нижними конечностями под углом 10–20° в течение 2–3 ч.

3.5. Введение пациенту внутривенно сормантола из расчета 0,5–1 г сухого вещества на 1 кг массы через 6 ч после интратекального введения МСК.

Этап 4. — проведение трех курсов реабилитации: через 2 недели, 2 мес. и 6 мес. после интратекального введения МСК

Для пациентов *со спастической формой детского церебрального паралича (ДЦП)* курс реабилитации включает:

4.1. Мероприятия физической реабилитации:

- индивидуальные ежедневные занятия ЛФК №№ 12–15, состоящие из а) упражнений пассивных, пассивно-активных, активных, дыхательных, корригирующих, на координацию, элементы онтогенетической ЛФК и эволюционных методик по 25–40 мин; б) механотерапии (степпер, беговая дорожка, велотренажер) №№ 12–15; в) лечение положением (ортопедические укладки) 30–45 мин в зале после занятия, 1–2 ч в палате;

- массаж ручной (классический) ежедневно №№ 10–12, чередовать через день — шейно-воротниковая зона и верхние конечности, пояснично-крестцовая зона и нижние конечности.

4.2. Физиотерапевтическое лечение:

- теплолечение: парафин-озокеритовые аппликации чередовать через день по типу «чулок» и пояснично-крестцовые сегменты, по типу «перчаток» и шейно-грудные сегменты №№ 10–12 по 10–15 мин;

- по окончании теплолечения — водолечение: вихревые общие ванны №№ 6–8 ежедневно;

- электролечение: СМТ сегментарно ежедневно чередовать шейно-грудные сегменты, через день пояснично-крестцовые сегменты №№ 8–10, затем электростимуляция мышц спины, ягодичных мышц, двуглавых мышц бедра (при рекурвации коленных суставов), четырехглавых мышц бедра (при выраженном ограничении объема движений в коленных суставах), разгибателей стоп чередовать №№ 10–12.

Для пациентов *с атактической формой ДЦП* курс реабилитации включает:

4.1. Мероприятия физической реабилитации:

- индивидуальные ежедневные занятия ЛФК №№ 12–15, состоящие из а) упражнений пассивных, пассивно-активных, активных, дыхательных, корригирующих, на координацию, элементы онтогенетической ЛФК и эволюционных методик по 25–40 мин; б) механотерапия (степпер, беговая дорожка, велотренажер) №№ 12–15; в) массаж ручной (классический) ежедневно №№ 10–12, чередовать через день шейно-воротниковая зона и верхние конечности, пояснично-крестцовая зона и нижние конечности;

- координаторные тренировки с использованием стабиллоплатформы 1 раз в день ежедневно по 20 мин №№ 10–15;

4.2. Физиотерапевтическое лечение:

- парафин-озокеритовые аппликации чередовать через день по типу «чулок» и поясничные сегменты, по типу «перчаток» и шейные сегменты №№ 10–12 по 10–15 мин;

- по окончании теплолечения — водолечение: вихревые общие ванны №№ 6–8 ежедневно;

- электролечение: СМТ сегментарно ежедневно чередовать шейно-грудные сегменты, через день пояснично-крестцовые сегменты №№ 8–10, затем электростимуляция мышц спины, ягодичных мышц, конечностей чередовать №№ 10–12.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Возможно развитие постпункционного синдрома после интратекального введения МСК, проявлявшегося головной болью, тошнотой, рвотой, гипертермией, менингеальными знаками. Данное состояние следует корректировать введением внутривенно сормантола из расчета 0,5–1 г сухого вещества на 1 кг массы, назначением постельного режима, обильного питья, анальгетиков (анальгин 5–10 мг/кг веса пациента внутривенно медленно), антипиретиков (парацетамол в разовых дозах для приема внутрь для детей в возрасте 6–12 лет — 250–500 мг, 1–5 лет — 120–250 мг. Разовые дозы при ректальном применении у детей в возрасте 6–12 лет — 250–500 мг, 1–5 лет — 125–250 мг).

Несоблюдение условий выполнения этапов может привести к потере клеток в трансплантате МСК или потере их жизнеспособности, недостаточной эффективности лечения и реабилитации.