

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель Министра
Д.Л. Пиневиц
2019 г.
Регистрационный № 172-1219



**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ У ЖЕНЩИН С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет», учреждение
здравоохранения «Гродненская университетская клиника»,
государственное научное учреждение «Институт биофизики и клеточной
инженерии НАН Беларуси»

АВТОРЫ: к.м.н., доцент Нечипоренко А.Н., д.м.н., профессор
Нечипоренко Н.А., Василевич Д.М., д.б.н., проф., акад. НАН Беларуси
Волотовский И.Д., к.б.н. Пинчук С.В., Василевич И.Б.

Гродно, 2019

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Д. Л. Пиневиц
26.12.2019

Регистрационный № 172-1219

**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ У ЖЕНЩИН
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: УО «Гродненский государственный медицинский университет», УЗ «Гродненская университетская клиника», ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. А. Н. Нечипоренко, д-р мед. наук, проф. Н. А. Нечипоренко, Д. М. Василевич, д-р биол. наук, проф., акад. НАН Беларуси И. Д. Волотовский, канд. биол. наук С. В. Пинчук, И. Б. Василевич

Гродно 2019

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод лечения недержания мочи при напряжении у женщин с использованием биомедицинского клеточного продукта на основе смеси аутологичных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани с коллагеновым гелем 7 %, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение недержания мочи у женщин.

Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначен для врачей-урологов, врачей-акушеров-гинекологов, оказывающих медицинскую помощь пациентам с недержания мочи при напряжении в амбулаторных и (или) стационарных условиях, и (или) условиях отделений дневного пребывания.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Изделия медицинского назначения и медицинская техника, необходимые для получения крови из периферической вены и выполнения эксплантации жировой ткани.

2. Биомедицинский клеточный продукт (БМКП) – «Культура мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани человека» по ТУ ВУ 100217351.004-2014 или другой клеточный продукт аутологичных мезенхимальных стволовых клеток (МСК), соответствующий следующим требованиям:

внешний вид: прозрачная жидкость беловатого цвета без посторонних включений;

количество клеток: не менее 6×10^6 ;

количество жизнеспособных клеток: не менее 85 %;

подлинность клеток (иммунофенотипическая характеристика): CD90⁺, CD44⁺, CD29⁺, CD73⁺, CD45^{low/-}, CD34^{low/-};

стерильность: стерильно.

3. Изделия медицинского назначения, лекарственные средства, реагенты и расходные материалы, необходимые для подготовки БМКП в соответствии с утвержденными техническими нормативными правовыми актами (ТНПА):

питательная среда DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium);

0,1 % раствор коллагеназы;

сыворотка аутологичная;

моноклональные антитела к антигенам человека: CD73, CD44, CD90, CD29, CD45, CD34 человека;

трипсин-ЭДТА (0,25 % раствор);

бензилпенициллина натриевая соль;

стрептомицина сульфат;

фосфатно-солевой буфер (ФСБ) Дульбекко без кальция и магния;

натрий хлорид (раствор 0,9 %) для инфузий;

трипановый синий (раствор 0,4%);

среда тиогликолиевая и среда Сабуро;

флаконы для культур клеток T25 и T75 стерильные;

системы фильтрации 0,45 и 0,2 мкм;

фильтр для взвеси клеток 70 мкм;
наконечники объемом 1–20, 20–200, 100–1000, 1–5 мл стерильные;
пробирки центрифужные объемом 15 и 50 мл стерильные;
пробирки стерильные полипропиленовые объемом 1–2 мл;
чашки Петри;
средства индивидуальной защиты;
камера Горяева.

4. Медицинская техника, необходимая для получения БМКП:
ламинарный шкаф 2 класса защиты;
инкубатор углекислотный;
проточный цитофлюориметр;
микроскоп инвертированный;
центрифуга с ротором для пробирок емкостью 15 и 50 мл;
автоматические дозаторы переменного объема (0,5–10, 10–100, 100–1000 и 0,5–5 мл);

холодильник с морозильной и холодильной камерами (от 2 до 8 °С; -20 °С).

5. Изделия медицинского назначения и лекарственные средства, необходимые для применения БМКП:

коллагеновый гель 7 %;
повидон-йод;
катетер Фолея № 18 Ch;
шприц 2 мл

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Другие уточненные виды недержания мочи у женщин (39.4 по МКБ-10).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Беременность во все сроки, лактация, острые или хронические заболевания в стадии декомпенсации, иные противопоказания, соответствующие таковым для использования БМКП, изделий медицинского назначения, лекарственных средств, необходимых для реализации метода, изложенного в настоящей инструкции.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Этап 1. Взятие, хранение и транспортировка биологического материала
Эксплантация жировой ткани для получения БМКП выполняется общепринятыми методами под местной анестезией путем резекции 10–12 г подкожно-жировой клетчатки в околопупочной или надлобковой области в условиях операционной с соблюдением правил асептики. Жировую ткань помещают в стерильный флакон с транспортной средой. Для получения аутологичной сыворотки выполняют забор крови из периферической вены общепринятыми методами в количестве 40–50 мл и помещают в стерильную пробирку. Биологический материал может транспортироваться и храниться при температуре от 2 до 12 °С не более 24 ч.

Этап 2. Получение и контроль качества БМКП

В стерильных условиях выполняют ферментативную обработку жировой ткани в 0,1 % растворе коллагеназы. Затем клеточную суспензию фильтруют

через фильтр 70 мкм, осаждают центрифугированием, удаляют супернатант. Клетки суспендируют в ростовой среде DMEM, содержащей 10 % аутологичной сыворотки. Клетки высевают в количестве 1×10^5 кл/см² в культуральные флаконы и инкубируют в течение 24 ч при 37 °С в CO₂-инкубаторе во влажной воздушной атмосфере при 5 % CO₂, после чего среду заменяют на свежую.

При образовании монослоя МСК пересевают, для чего монослой промывают ФСБ, обрабатывают 0,25 % раствором трипсина. Клетки высевают в культуральные флаконы в количестве 4×10^3 кл/см², накапливают их необходимое количество в течение 2–3 пассажей, смену ростовой среды осуществляют каждые 72 ч.

На конечной стадии получения БМКП суспендируют в растворе натрия хлорида 0,9 % для инфузий из расчета не менее 6,0 млн клеток в 1,5 мл.

Контроль стерильности осуществляют согласно ст. 2.6.27 «Микробиологический контроль клеточных продуктов» Государственной фармакопеи Республики Беларусь.

Для контроля подлинности осуществляют оценку фенотипического состава БМКП с использованием моноклональных антител к молекулам CD29, CD73, CD44, CD90, CD34, CD45, меченных флуорохромами. Учет выполняют на проточном цитофлуориметре.

Для определения жизнеспособности БМКП используют тест на исключение красителя трипанового синего.

БМКП считают прошедшим контроль качества при экспрессии молекул CD29, CD73, CD44, CD90 более 90 %; CD34 – менее 3 %; CD45 – менее 2,5 %, жизнеспособности – более 85 %, отсутствии контаминации бактериями и дрожжеподобными грибами.

БМКП хранится при температуре от 5 до 10 °С в течение не более 12 ч и при температуре от 10 до 37 °С не более 4 ч с момента приготовления.

Этап 3. Приготовление смеси БМКП с коллагеновым гелем 7 %

Приготовленный в соответствии с этапом 2 настоящей инструкции БМКП или аналог в асептических условиях непосредственно перед использованием смешивают с 7 % коллагеновым гелем в соотношении 1:1, интенсивно перемешивая до однородной консистенции. Смесь из стерильной пробирки набирают в стерильный шприц, удаляют воздух из шприца. Таким образом в 1 мл смеси содержится не менее 2,0 млн МСК.

Этап 4. Применение смеси БМКП с коллагеновым гелем 7 %

Перед введением смеси БМКП с коллагеновым гелем пациенту проводится обработка наружных половых органов повидон-йодом. Выполняют катетеризацию уретры. В проекции средней трети уретры на 3, 6 и 9 ч условного циферблата выполняется введение по 1 мл смеси БМКП с коллагеновым гелем в стенку уретры и парауретральную область. Суммарно вводится 3 мл смеси, содержащей не менее 6 млн МСК. Иглу располагают перпендикулярно оси уретры. После выполнения инъекций устанавливается тампон во влагалище. Катетер Фолея извлекают через 5–24 ч после введения смеси БМКП с коллагеновым гелем 7 % в зависимости от состояния пациента.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Аллергическая реакция на повидон-йод. При ее возникновении руководствуются протоколом оказания помощи при возникновении анафилактических состояний (постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 01.06.2017 № 50 «Об утверждении клинических протоколов «Экстренная медицинская помощь пациентам с анафилаксией», «Диагностика и лечение системной токсичности при применении местных анестетиков»).