

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Горватт Заместитель Министра



Д.Л.Пиневич

2015 г.

Министерский приказ № 204-1215

**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ИДИОПАТИЧЕСКИМ
ФИБРОЗИРУЮЩИМ АЛЬВЕОЛИТОМ И ХРОНИЧЕСКОЙ
ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНЫХ
МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ - РАЗРАБОТЧИКИ:

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»

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

АВТОРЫ:

К. м. н. Лицкевич Лариса Владимировна, д. м. н., профессор Гуревич Геннадий Львович, к. б. н. Шпаковская Наталья Савельевна, к. м. н. Скрягин Александр Егорович, д. м. н. Скрягина Елена Михайловна, Солодовникова Варвара Валерьевна, к.м.н. Исайкина Янина Ивановна, Новикова Мария Андреевна

Минск, 2015

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Д.Л. Пиневич

12.12.2015

Регистрационный № 204-1215

**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ
С ИДИОПАТИЧЕСКИМ ФИБРОЗИРУЮЩИМ АЛЬВЕОЛИТОМ
И ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии», ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»

АВТОРЫ: канд. мед. наук Л.В. Лицкевич, д-р мед. наук, проф. Г.Л. Гуревич, канд. биол. наук Н.С. Шпаковская, канд. мед. наук А.Е. Скрыгин, д-р мед. наук Е.М. Скрыгина, В.В. Солодовникова, канд. мед. наук Я.И. Исайкина, М.А. Новикова

Минск 2015

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) представлен метод лечения пациентов с идиопатическим фиброзирующим альвеолитом (ИФА) и хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) с использованием аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение пациентов с ХОБЛ, ИФА в возрасте от 18 до 65 лет.

Инструкция предназначена для врачей-пульмонологов, врачей анестезиологов-реаниматологов и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам в стационарных условиях.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Проточной цитофлуориметр.
2. Набор моноклональных антител для определения поверхностных клеточных маркеров CD34, CD45, CD105, CD90, CD73.
3. Ламинарный шкаф 2-го класса защиты.
4. CO₂-инкубатор.
5. Центрифуга.
6. Микроскоп инвертированный.
7. Культуральные флаконы на 175 см² для роста МСК.
8. Пипетки серологические — 10 и 25 мл.
9. Пробирки центрифужные — 15 и 50 мл.
10. Среда для культуры клеток Дюльбекко в модификации Искова (IMDM).
11. Эмбриональная телячья сыворотка.
12. Трипсин-ЭДТА, раствор 0,25%.
13. Фиколл-1077 Гистопак.
14. Иглы для костномозговой пункции.
15. Вакутайнеры по 10 мл с сухим гепарином.
16. Катетер (G16-18).
17. 0,9%-й раствор NaCl.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Среднетяжелое течение ХОБЛ в стадии обострения.
2. Легкое и среднетяжелое течение ИФА, стадия прогрессирования.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

- беременность и лактация;
- полная блокада правой ножки пучка Гиса
- аллергические заболевания в фазе обострения;
- хронический алкоголизм, наркомания.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Метод клеточной терапии пациентов с ХОБЛ и ИФА с использованием аутологичных ММСК обязательно проводится на фоне базисной терапии

заболеваний согласно Клиническим протоколам диагностики и лечения болезней органов дыхания (приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 768 от 05.07.2012). При ХОБЛ — ингаляционные противовоспалительные ЛС (ипротропия/тиотропия бромид), комбинированные ЛС (тевакомб, сальметерол/флутиказон и др.), муколитики (амброксол), пролонгированные теофиллины (теопек), лечение сопутствующих заболеваний, дыхательная гимнастика, тренировка дыхательной мускулатуры. При ИФА — противовоспалительные ЛС (глюкокортикостероиды), комбинированные ЛС (тевакомб), лечение сопутствующих заболеваний, дыхательная гимнастика, тренировка дыхательной мускулатуры.

Этап 1. Принятие решения о применении биотрансплантата ММСК для лечения пациентов с ХОБЛ, ИФА в возрасте от 18 до 65 лет

Этап 2. Получение биотрансплантата ММСК из костного мозга пациента.

2.1. Эксфузия костного мозга в объеме 50–70 мл посредством костномозговой пункции под локальной анестезией за 20–30 сут до трансплантации ММСК.

2.2. Выделение моноклеарных клеток из костного мозга на градиенте плотности Фиколл-1077 Гистопак центрифугированием.

2.3. Выделение популяции ММСК из моноклеарных клеток костного мозга методом адгезии на пластике флакона с последующим культивированием ММСК в IMDM в концентрации $2-3 \times 10^6$ /мл.

2.4. Экспансия ММСК путем 2–3 пассажей (пересевов) клеток при получении 80–95% конфлюэнтного слоя.

2.5. Подсчет клеток под микроскопом. Получение биотрансплантата ММСК в количестве не менее $0,7 \times 10^6$ /кг от массы тела пациента.

2.6. ММСК отмывают дважды в физиологическом растворе и разводят в 20 мл физиологического раствора с 5% альбумином для дальнейшего введения пациенту.

2.7. Идентификация полученных *in vitro* ММСК по наличию поверхностных маркеров CD105, CD90, CD73. Биотрансплантат МСК должен содержать не менее 90% клеток с маркерами CD105, CD90, CD73 и менее 2% с маркерами гемопоэтических клеток CD45, CD34, CD14.

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

2.9. Исследование биотрансплантата ММСК на стерильность. Для инфузии пациенту применяются только трансплантат МСК с отрицательными показателями по всему спектру возможной бактериальной и вирусной контаминации.

Мероприятия 2.1–2.9 этапа 2 осуществляются согласно общепринятым методикам.

Для применения может быть использован биомедицинский клеточный продукт «Клетки мезенхимальные стволовые костного мозга человека ТУ ВУ 600395123.001-2014» или аналогичный биомедицинский клеточный продукт, полученный согласно утвержденным учреждениями здравоохранения ТУ 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% CD 34, CD 45, CD14 <2%
Стерильность	Стерильно

Этап 3. Трансплантация ММСК пациентам с ХОБЛ, ИФА.

Осуществляется в организациях здравоохранения в порядке, установленном актами законодательства Республики Беларусь.

3.1. Для процедуры реинфузии аутологичных ММСК пациентов переводят в ОИТР, где осуществляют мониторинг жизненно важных функций (электрокардиограмма, артериальное давление, пульс, частота дыхания, температура тела, SpO₂-сатурация артериальной крови). С учетом возможной интенсивной терапии пациенты должны воздержаться от приема пищи и жидкости в течение 2 ч перед реинфузией.

3.2. Пациентам устанавливают катетер (G16-18) в периферическую вену.

3.3. Суспензию ММСК в дозе $0,7-1,5 \times 10^6$ /кг вводят внутривенно медленно в течение 10 мин однократно.

3.4. Продолжают визуальный мониторинг кожных покровов, общего состояния пациента с определением частоты дыхания, пульса, артериального давления, температуры тела, при необходимости (при первоначальном значении сатурации артериальной крови менее 95%) — мониторию кислотно-основного состояния артериальной крови в условиях ОИТР не менее 2 ч.

3.5. Переводят пациентов в пульмонологическое отделение с контролем общего анализа мочи и крови на следующее утро.

Этап 4. Наблюдение за пациентом.

После введения клеток пациенты должны находиться в условиях стационара 5–7 дней. Ежедневно проводится клиническая оценка состояния пациента в течение недели, на раннем этапе лечения (через 5–7 дней; 1; 1,5–2; 3, 4–5 месяцев) и в позднем посттрансплантационном периоде (через 7–10 мес. после введения ММСК) для определения эффективности лечения.

Определение эффективности лечения

Критериями эффективности лечения являются:

- снижение степени выраженности обструктивных (при ХОБЛ) и рестриктивных нарушений (при ИФА): увеличение ОФВ₁, индекса Тиффно на 10–13% от исходного уровня;

- повышение толерантности к физической нагрузке по данным теста с 6-минутной ходьбой (увеличение пройденной дистанции в м на 10–40% от исходного уровня);

- снижение активности воспалительного процесса (улучшение общего состояния, снижение одышки на 1–2 балла по шкале MRC, снижение уровня гамма-интерферона, положительная динамика КТВР);

- тенденция к нормализации (нормализация) лабораторных и клинических показателей: общегематологических (снижение СОЭ, палочкоядерных нейтрофильных лейкоцитов, эозинофилов), иммунологических (общего количества Т-лимфоцитов, Т-хелперов, активация естественных киллеров), интегральных показателей качества жизни (психического и физического здоровья) по опроснику SF-36.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

1. Аллергическая реакция на местный анестетик во время забора клеток.

2. Трансфузионная реакция в течение первых суток после внутривенного введения клеток, проявляющаяся повышением температуры до 37,5°C и гриппоподобным состоянием.

Учитывая результаты исследований, при правильном выполнении всех пунктов инструкции риск возникновения осложнений чрезвычайно мал.