

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

2013 г.

Регистрационный № 091-0913



**МЕТОД КОТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ  
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ УСКОРЕНИЯ  
ПРИЖИВЛЕНИЯ АЛЛОГЕННОГО ТРАНСПЛАНТАТА  
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Государственное учреждение

«Республиканский научно-практический центр детской онкологии,  
гематологии и иммунологии»

АВТОРЫ:

Исайкина Я.И., к.б.н., Марейко Ю.Е., Алейникова О.В., член-  
корреспондент НАНБ, д. м. н., профессор.

Минск, 2013

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ  
Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ Д.Л. Пиневиц  
09.12.2013  
Регистрационный № 091-0913

**МЕТОД КОТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ  
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ УСКОРЕНИЯ ПРИЖИВЛЕНИЯ  
АЛЛОГЕННОГО ТРАНСПЛАНТАТА ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ  
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

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

АВТОРЫ: канд. биол. наук Я.И. Исайкина, Ю.Е. Марейко, д-р мед. наук, проф.,  
чл.-кор. НАН Беларуси О.В. Алейникова

Минск 2013

Настоящая инструкция по применению (далее — инструкция) предназначена для врачей-гематологов и врачей-трансплантологов организаций здравоохранения, других врачей-специалистов, оказывающих медицинскую помощь пациентам, у которых по протоколу лечения производится аллогенная трансплантация костного мозга.

### **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

1. Проточный цитофлуориметр.
2. Наборы моноклональных антител для определения поверхностных клеточных маркеров CD34, CD45, CD105, CD90, CD73.
3. Ламинарный шкаф 2-го класса защиты для проведения процессинга по получению биотрансплантата МСК.
4. CO<sub>2</sub>-инкубатор для роста культуры МСК.
5. Центрифуга.
6. Микроскоп инвертированный.
7. Культуральные флаконы на 175 см<sup>2</sup> для роста МСК.
8. Пипетки серологические на 10 и 25 мл.
9. Пробирки центрифужные на 15 и 50 мл.
10. Камера Горяева.
11. Среда для клеточных культур Дюльбекко в модификации Искова (IMDM).
12. Эмбриональная телячья сыворотка.
13. Трипсин-ЭДТА, раствор 0,25%.
14. Фиколл-1077 Гистопак.
15. 0,9%-й раствор NaCl.

### **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в случае низкого содержания фракции CD34+ клеток в аллогенном трансплантате ГСК или применения аллогенных ГСК от несовместимого по HLA антигену донора, что сопряжено с задержкой приживления трансплантата.

Необходимым условием является получение письменного информированного согласия родителей или пациентов об использовании биотрансплантата мезенхимальных стволовых клеток (МСК) для котрансплантации.

### **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ**

Отсутствуют.

### **ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА**

Метод предназначен для лечения при выполнении аллогенной трансплантации ГСК в случае содержания в трансплантате CD34+ клеток менее  $2,5 \times 10^6$ /кг, что ограничивает использование этого коллекционного продукта для

трансплантации, или в случае применения аллогенного трансплантата, полученного от несовместимого по HLA-антигенам донора.

**Этап 1.** Принятие решения о применении биотрансплантата МСК для котрансплантации с ГСК в случае отнесения пациента к группе риска значительной задержки восстановления гемопоэза в раннем посттрансплантационном периоде и приживления ГСК донора (большой вес реципиента, агрессивная предшествующая химиолучевая терапия, несовместимость реципиента и донора по HLA-антигенам и др.).

**Этап 2.** Получение биотрансплантата МСК из костного мозга аллогенного донора ГСК или «стороннего» донора.

2.1. Обследование потенциального донора костного мозга для МСК сразу после принятия решения о котрансплантации МСК. Доноры МСК должны иметь отрицательный результат анализа на ВИЧ, вирусы гепатита С (HCV) и гепатита В (HBV), человеческий вирус Т-клеточной лейкемии (HTLV), сифилис и, желателно, совместимы по цитомегаловирусному статусу с реципиентом.

2.2. Эксфузия костного мозга в объеме 20–50 мл у донора посредством костномозговой пункции под локальной анестезией за 20–30 сут до проведения трансплантации ГСК.

2.3. Выделение популяции МСК из моноклеарных клеток костного мозга и культивирование их в IMDM в концентрации  $2-3 \times 10^6$ /мл.

2.4. Нарращивание эффективного для выполнения трансплантации количества МСК путем проведения 2–3 пассажей (пересевов) клеток при получении 80–95% конфлюэнтного слоя с обязательным контролем отсутствия бактериальной контаминации для клеток каждого пассажа.

2.5. Получение биотрансплантата МСК в количестве не менее  $0,3 \times 10^6$ /кг веса пациента.

2.6. Идентификация полученных *in vitro* МСК по наличию поверхностных маркеров CD105, CD90, CD73. Биотрансплантат МСК должен содержать не менее 90% клеток с поверхностными маркерами CD105, CD90 и CD73.

2.7. Исследование МСК каждого пассажа на стерильность. Для инфузии применяются только трансплантат МСК с отрицательными показателями по всему спектру возможной бактериальной и вирусной контаминации.

Мероприятия 2.1–2.7 этапа 2 осуществляются согласно общепринятым методикам.

**Этап 3.** Котрансплантация МСК совместно с ГСК для ускорения восстановления посттрансплантационного гемопоэза у пациентов.

3.1. МСК отмывают дважды в физиологическом растворе и разводят в 20 мл физиологического раствора с 5% альбумином для дальнейшего введения.

3.2. Суспензию МСК в течение 24 ч после трансплантации ГСК вводят пациенту внутривенно в течение 10 мин.

3.3. Ежедневно осуществляют анализ показателей периферической крови пациента до получения параметров, характеризующих приживление трансплантата, а именно: количество лейкоцитов в анализе периферической крови должно быть  $\geq 1000$ /мкл ( $1 \times 10^9$ /л), нейтрофилов —  $\geq 500$ /мкл ( $0,5 \times 10^9$ /л), ретикулоцитов —  $\geq 0,1\%$  в течение 3 дней.

## **ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ**

При четком соблюдении заданий этапов ошибки и осложнения отсутствуют.

Несоблюдение последовательности выполнения этапа 2 может привести к потере клеток в биотрансплантате МСК, потере их жизнеспособности.