

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра
_____ Д.Л. Пиневиц

«_____» _____ 2019 г.

Регистрационный № 093-0619



**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ РАКОМ
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, С ПРИМЕНЕНИЕМ
МОНОЦИТАРНЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ - РАЗРАБОТЧИКИ:

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», учреждение здравоохранения «Минский городской клинический онкологический диспансер»

АВТОРЫ: канд. мед. наук Гончаров А.Е., д-р. мед. наук, проф. Прохоров А.В., Тимохина О.В., Романовская С.Э., Дуж Е.В., Бобрукевич Д.В., Романова И.В., канд. биол. наук Антоневиц Н.Г., Рында Е.Г.

Минск, 2019

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Д. Л. Пиневиц

06.09.2019

Регистрационный № 093-0619

**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ РАКОМ
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, С ПРИМЕНЕНИЕМ МОНОЦИТАРНЫХ
ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», УО «Белорусский государственный медицинский университет», УЗ «Минский городской клинический онкологический диспансер»

АВТОРЫ: канд. мед. наук А. Е. Гончаров, д-р. мед. наук, проф. А. В. Прохоров, О. В. Тимохина, С. Э. Романовская, Е. В. Дуж, Д. В. Бобрукевич, И. В. Романова, канд. биол. наук Н. Г. Антоневиц, Е. Г. Рында

Минск 2019

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод лечения злокачественных новообразований поджелудочной железы с использованием биомедицинского клеточного продукта (БМКП) — моноцитарных дендритных клеток (ДК), который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение рака поджелудочной железы (РПЖ).

Инструкция предназначена для врачей-онкологов, иных врачей-специалистов, оказывающих медицинскую помощь пациентам, страдающим РПЖ, в амбулаторных и (или) стационарных условиях, и (или) условиях дневного стационара.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Изделия медицинского назначения, необходимые для взятия крови из периферической вены и выполнения подкожной инъекции БМКП.

2. БМКП — моноцитарные ДК, внесенный в Государственный реестр биомедицинских клеточных продуктов Республики Беларусь, или другой БМКП аутологичных ДК, соответствующий следующим требованиям:

внешний вид: слегка опалесцирующая жидкость беловатого цвета без посторонних включений;

количество клеток: не менее 1×10^6 ;

количество жизнеспособных клеток: не менее 85 %;

подлинность (иммунофенотипическая характеристика клеток): экспрессия CD209+ — не менее 90 %, CD83+ — не менее 50 %;

стерильность: стерильно.

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

среда бессывороточная для культивирования ДК;

градиент плотности фиколл-пак 1076 г/л;

фосфатно-солевой буфер Дульбекко без кальция и магния;

раствор натрия хлорида 0,9 % для инфузий;

рекомбинантные человеческие цитокины: гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), интерлейкин-4 (ИЛ-4), фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α);

дибутирил-цАМФ (дб-цАМФ), 7-аминоактиномицин Д;

лизат опухоли пациента и/или синтетические пептиды антигенов MUC1 и WT1;

моноклональные антитела к антигенам человека CD83, CD209;

среда тиогликолевая и среда Сабуро;

флаконы для культур клеток T25;

наконечники стерильные объемом 1–20; 20–200; 100–1000 и 1–5 мл;

пробирки центрифужные стерильные объемом 15 и 50 мл;

чашки Петри;

средства индивидуальной защиты;

гемоцитометр с сеткой Горяева.

4. Медицинская техника, необходимая для получения БМКП в соответствии с ТНПА, утвержденными в установленном порядке:

ламинарный шкаф 2В класса защиты;

инкубатор углекислотный;

проточный цитофлуориметр;

микроскоп инвертированный;

центрифуга с ротором для пробирок емкостью 15 и 50 мл;

автоматические дозаторы переменного объема;

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

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Злокачественное новообразование поджелудочной железы (С25 по МКБ-10).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Общее состояние по шкале EGOC >2 баллов, беременность, острые или хронические заболевания в стадии декомпенсации, заболевания и патологические состояния, сопровождающиеся снижением абсолютного содержания моноцитов периферической крови $<0,1 \times 10^9/\text{л}$, иные противопоказания, соответствующие таковым для применения БМКП, изделий медицинского назначения и лекарственных средств, необходимых для реализации метода, изложенного в инструкции.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1. Получение, хранение и транспортировка биоматериала

В качестве биологического материала для получения единичной дозы БМКП используют кровь, полученную из периферической вены общепринятыми методами, в количестве 40–50 мл, помещенную в стерильную пробирку, содержащую натриевую соль гепарина в качестве антикоагулянта. Биологический материал может транспортироваться и храниться при температуре от 2 до 25 °С не более 24-х ч.

2. Получение и контроль качества БМКП

2.1. Мононуклеары периферической крови (МПК) выделяют путем центрифугирования образца крови на градиенте плотности фиколл-пака с плотностью 1076 г/л. Моноциты получают из фракции МПК методом адгезии с последующим культивированием в течение 5 сут в бессывороточной питательной среде, содержащей рекомбинантные человеческие цитокины (50 нг/мл ГМ-КСФ и 25 нг/мл ИЛ-4), в увлажненной атмосфере с 5 % CO₂ при 37 °С.

2.2. На 5-е сут во флаконы с незрелыми ДК добавляют 50 нг/мл ФНО-α, 50 мкг/мл дб-цАМФ, 1 мг/мл лизата опухоли и/или по 10 мкг синтетических пептидов MUC1 и WT1. ДК культивируют 1-е сут в увлажненной атмосфере с 5 % CO₂ при 37 °С.

2.3. На конечной стадии получения БМКП суспендируют в растворе 0,9 % растворе хлорида натрия в концентрации $1 \times 10^7/\text{мл}$.

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

2.5. Для контроля подлинности клеток осуществляют оценку фенотипического состава БМКП с использованием моноклональных антител к молекулам CD83, CD209, меченных флуорохромами. Учет ведут на проточном цитофлуориметре.

2.6. Для определения жизнеспособности БМКП используют 7-аминоактиномицин Д. Учет результатов ведут на проточном цитофлуориметре.

2.7. БМКП считают прошедшим контроль качества при экспрессии молекулы CD83 — >50 %, молекулы CD209 — >90 %, жизнеспособности — выше 85 %, а также отсутствии контаминации бактериями и дрожжеподобными грибами.

3. Применение БМКП

3.1. Введение БМКП осуществляют в процедурном кабинете.

3.2. Перед первым введением БМКП для предотвращения возможных аллергических реакций немедленного типа выполняют кожный тест, для чего вводят подкожно в область медиальной поверхности предплечья 0,1 мл взвеси клеток. Наблюдают за состоянием пациента на протяжении 30 мин. При отсутствии системных и местных аллергических реакций (гипотензия, крапивница, бронхоспазм и др.) переходят к выполнению дальнейших этапов инструкции. При наличии системных и местных аллергических реакций пациенту оказывают необходимую медицинскую помощь, применение БМКП прекращают.

3.3. БМКП вводят подкожно с соблюдением правил асептики и антисептики по 0,2–0,3 мл в область предплечья или верхней трети плеча, или передней брюшной стенки на расстоянии не менее 3 см от каждого введения.

3.4. Повторяют этапы 1 и 3.3. инструкции 4 раза с интервалом в 2–3 недели.

3.5. Через 1 мес. с момента завершения вышеуказанных этапов инструкции определяют эффективность лечения на основании следующих критериев:

отсутствие прогрессирования онкозаболевания;

увеличение содержания в периферической крови антигенспецифических Т-клеток;

снижение содержания в периферической крови Т-регуляторных клеток;

снижение содержания в периферической крови циркулирующих опухолевых клеток.

3.6. В случае эффективности повторяют этапы 3.3.–3.5. инструкции через 2–3 мес.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

После введения БМКП в течение 1–5 сут может наблюдаться отечность, инфильтрация, болезненность, гиперемия, зуд в месте введения БМКП, а также субфебрилитет.