

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневич

2013 г.

Регистрационный № 094-0913



**МЕТОД ПРОТИВОРЕЦИДИВНОЙ АУТОИММУНОТЕРАПИИ  
ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ ПЕРВИЧНЫМ РАКОМ  
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ  
МОНОЦИТАРНЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

**УЧРЕЖДЕНИЯ - РАЗРАБОТЧИКИ:**

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

**АВТОРЫ:**

кандидат медицинских наук Гончаров А.Е., доктор медицинских наук, профессор Титов Л.П., Кошелев С.В., доктор медицинских наук Шаповал Е.В.

Минск, 2013

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ  
Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ Д.Л. Пиневиц  
04.10.2013  
Регистрационный № 094-0913

**МЕТОД ПРОТИВОРЕЦИДИВНОЙ АУТОИММУНОТЕРАПИИ  
ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ ПЕРВИЧНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ  
ЖЕЛЕЗЫ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОНОЦИТАРНЫХ ДЕНДРИТНЫХ  
КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

АВТОРЫ: канд. мед. наук А.Е. Гончаров, д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси Л.П. Титов, С.В. Кошелев, д-р мед. наук Е.В. Шаповал

Минск 2013

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) представлен метод адьювантной противорецидивной аутоиммунотерапии на основе дендритных клеток (ДК), дополняющей первичное комплексное лечение пациентов, страдающих раком молочной железы (РМЖ).

Инструкция предназначена для врачей-онкологов, врачей-иммунологов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам, страдающим РМЖ.

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

1. Оборудование, расходные материалы и реагенты для определения показателей общего анализа крови, общего анализа мочи, биохимического анализа крови (АЛТ, АСТ, билирубин, мочевины, креатинин), выявление  $CD4^+CD25^{high}(CD127^+FoxP3^+)$  Т-регуляторных клеток и антигенспецифических Т-клеток (АСК), ИГХ-маркеров опухолевых клеток (Ki-67, p53, HLA-A2).

2. Инструменты и расходные материалы для забора венозной крови и подкожного введения ДК.

## **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Женщины после первичного лечения по поводу биологически агрессивного РМЖ, характеризующегося высокой пролиферативной активностью удаленных опухолей, подтвержденной гиперэкспрессией регуляторного протеина митотического цикла Ki-67, отражающего интенсивность опухолевого роста (не менее 20% клеток), на фоне гиперэкспрессии мутантного протеина p53, ассоциированного с блокадой апоптоза пролиферирующих злокачественных клеток (не менее 20%) и сохраненной иммунораспознаваемости злокачественных клеток по наличию экспрессии HLA-A2 (не менее 10% клеток опухоли).

Иммунотерапия с использованием ДК может быть назначена пациентам спустя 3 мес. после завершения цитотоксической терапии.

## **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ**

Противопоказаниями являются: прогрессирование основного заболевания в виде рецидивов и метастазов, беременность и лактация (ввиду отсутствия данных о безопасности иммунотерапии ДК в данной группе пациенток), возраст до 18 и старше 60 лет, сопутствующие аллергические и аутоиммунные заболевания в фазе клинко-лабораторного обострения, лейкопения (менее  $3,0 \times 10^9/л$ ), тромбоцитопения (менее  $100 \times 10^9/л$ ), лимфопения (менее 18%). Пациенткам, получающим иммуносупрессивную терапию, может быть назначена иммунотерапия с использованием ДК спустя 1 мес. после прекращения приема иммуносупрессивных лекарственных средств. Назначать иммунотерапию ДК пациенткам, страдающим алкогольной и/или наркотической зависимостью, следует с осторожностью ввиду того, что проведение терапии и последующий контроль эффективности и безопасности может быть затруднен.

## **ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА**

Перед началом иммунотерапии проводят полное обследование пациентки для исключения метастазов, учитывают противопоказания к применению метода иммунотерапии ДК, получают информированное согласие (см. также инструкцию по применению «Метод обеспечения и оценки безопасности иммунотерапии аутологичными дендритными клетками пациентов с онкологическими, хроническими инфекционными и аутоиммунными заболеваниями», рег. № 142-1012, утв. 20.12.2012, авторы: Гончаров А.Е., Скрягина Е.М., Титов Л.П., Путырский Л.А., Скрягин А.Е., Шпаковская Н.С., Романова И.В., Солодовникова В.В., Кошелев С.В.).

До введения ДК у пациента забирают кровь для определения показателей иммунного статуса, включая содержание Т-регуляторных клеток и АСК (подробнее см. инструкцию по применению «Метод оценки специфического иммунного ответа на аутоиммунотерапию дендритными клетками пациентов с раком молочной железы», рег. № 114-1111, утв. 20.04.2012, авторы: Гончаров А.Е., Титов Л.П., Путырский Л.А., Кошелев С.В.).

### **I. Забор материала и его транспортировка**

1. Перед каждым взятием крови для получения ДК проводят стимуляцию лейкопоза лекарственными средствами гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (филграстим, нейпоген и др.) для получения достаточного количества функционально активных ДК. Через 1–2 сут осуществляют забор крови для получения ДК.

2. Периферическую венозную кровь забирают с соблюдением правил асептики натошак до 10 ч утра в количестве 50 мл в стерильную полипропиленовую пробирку, содержащую антикоагулянт — 100 мкл стерильного раствора гепарина сульфата (5000 ЕД в 1 мл). При первом заборе крови для получения ДК также отбирают 15 мл крови в стерильную полипропиленовую пробирку без антикоагулянта (для получения сыворотки).

3. Маркируют пробирку (фамилия, имя, отчество пациентки, номер истории болезни, время и дата забора крови).

4. Пробирку с кровью помещают в контейнер и доставляют в лабораторию при температуре 18–25°C в течение не более 5 ч после забора крови.

### **II. Подготовка ДК**

Подготовку ДК проводят в течение 8 сут в соответствии с лабораторным регламентом на производство «Культуры аутологичных моноцитарных дендритных клеток, праймированных короткоцепочечными пептидами мутантного протеина р53, для иммунотерапии пациентов, страдающих раком молочной железы».

### **III. Транспортировка ДК**

Пластиковую пробирку с ДК транспортируют в клинику в течение 3 ч после приготовления при температуре 18–25°C.

### **IV. Методика введения ДК**

Введение ДК проводят при наличии информированного письменного согласия пациентки на терапию, в процедурном кабинете медицинского учреждения. Для предотвращения возникновения системных аллергических

реакций перед первым введением клеток проводят кожные пробы, используя взвесь ДК. Для этого пациентке вводят внутривожно в область медиальной поверхности предплечья 0,1 мл взвеси клеток (но не более  $1 \times 10^6$  клеток). Через 30 мин при отсутствии системных и местных реакций (гипотензия, крапивница, бронхоспазм и др.) вводят оставшуюся взвесь клеток.

Взвесь ДК вводят подкожно, с соблюдением правил асептики и антисептики, по 0,2–0,3 мл (но не более  $10 \times 10^6$  клеток в одно место инъекции) в область верхней трети плеча и передней брюшной стенки на расстоянии не менее 3 см от каждого введения.

#### **V. Наблюдение за пациентом после первого введения клеток**

Проводят следующее обследование после введения ДК:

- клиническое обследование и осмотр места инъекции — ежедневно в течение недели;

- общий анализ крови, биохимический анализ крови — через 5–7 дней после начала терапии.

Допускается болезненность, гиперемия, зуд в месте введения клеток. Также допускаются субфебрилитет в течение нескольких суток после инъекции.

Спустя 2–3 недели после первого введения ДК повторяют этапы I–IV.

Через 2–3 недели после второго введения ДК повторяют этапы I–IV.

Через 2–3 недели после третьего введения ДК у пациентки забирают кровь для определения Т-регуляторных клеток и АСК.

Через 2–3 мес. после третьего введения ДК повторяют этапы I–IV.

Через 2–3 мес. после четвертого введения ДК повторяют этапы I–IV.

Через 3 мес. после завершения терапии ДК у пациентки забирают кровь для определения Т-регуляторных клеток и АСК.

#### **VI. Определение эффективности терапии**

Критериями эффективности иммунотерапии являются:

- отсутствие прогрессирования заболевания;

- увеличение числа АСК и снижение числа Т-регуляторных клеток.

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

В случае правильного выполнения всех пунктов настоящей инструкции по применению, риск возникновения осложнений чрезвычайно мал.