

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

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

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) представлено применение адъювантной 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.

## **1 Показания к применению**

Пациенты после первичного лечения по поводу биологически агрессивного РМЖ, характеризующегося высокой пролиферативной активностью удаленных опухолей, подтвержденной гиперэкспрессией регуляторного протеина митотического цикла Ki-67, характеризующего интенсивность опухолевого роста (не менее 20% клеток), на фоне гиперэкспрессии мутантного протеина p53, ассоциированного с блокадой апоптоза пролиферирующих злокачественных клеток (не менее 20% клеток) 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 месяца после завершения цитотоксической терапии.

## **2 Перечень необходимого оборудования, реактивов и материалов:**

- оборудование, расходные материалы и реагенты для определения показателей общего анализа крови, общего анализа мочи, биохимического анализа крови (АЛТ, АСТ, билирубин, мочевины, креатинин), определение CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>(CD127<sup>-</sup>FoxP3<sup>+</sup>) Т-регуляторных клеток и антигенспецифических Т-клеток (АСК), ИГХ-маркеров опухолевых клеток (Ki-67, p53, HLA-A2);
- инструменты и расходные материалы для забора венозной крови и

подкожного введения ДК.

### **3 Технология использования метода**

Перед началом иммунотерапии проводят полное обследование пациента для исключения метастазов, учитывают противопоказания к применению метода иммунотерапии ДК, получают информированное согласие пациента (см. также инструкцию по применению «Метод обеспечения и оценки безопасности иммунотерапии аутологичными дендритными клетками пациентов с онкологическими, хроническими инфекционными и аутоиммунными заболеваниями», регистр. № 142–1012, утв. 20.12.2012, авторы Гончаров А.Е., Скрыгина Е.М., Титов Л.П., Путырский Л.А., Скрыгин 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», регистр. № 114–1111, утв. 20.04.2012, авторы: Гончаров А.Е., Титов Л.П., Путырский Л.А., Кошелев С.В.).

#### **3.1 Забор материала и его транспортировка**

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

2. Периферическую венозную кровь забирают с соблюдением правил асептики натошак до 10 часов 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 пациента, 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 часов после забора крови.

### **3.2 Подготовка ДК**

Подготовку ДК проводят в течение 8 суток 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».

### **3.3 Транспортировка ДК**

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

### **3.4 Методика введения ДК пациенту**

Введение ДК проводят при наличии информированного письменного согласия пациента 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 пациенту вводят внутрикожно в область медиальной поверхности предплечья 0,1 мл взвеси клеток (но не более  $1 \times 10^6$  клеток). Через 30 минут при отсутствии системных и местных реакций (гипотензия, крапивница, бронхоспазм и др.) проводится введение оставшейся взвеси 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 в область верхней трети плеча и передней брюшной стенки на расстоянии не менее 3 см от каждого введения.

### **3.5 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.

3.6 Спустя 2–3 недели после первого введения ДК повторяют этапы 3.1 – 3.4.

3.7 Через 2–3 недели после второго введения ДК повторяют этапы 3.1 – 3.4.

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

3.9 Через 2–3 месяца после третьего введения ДК повторяют этапы 3.1 – 3.4.

3.10 Через 2–3 месяца после четвертого введения ДК повторяют этапы 3.1 – 3.4.

3.11 Через 3 месяца после завершения терапии ДК у пациента забирают кровь для определения Т-регуляторных клеток и АСК.

### **3.12 Определение эффективности терапии**

Критериями эффективности иммунотерапии являются:

- отсутствие прогрессирования заболевания;

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

#### **4 Противопоказания к применению**

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

#### **5 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.