

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневич

« » 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

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:

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

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.

1 Показания к применению

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

2 Противопоказания к применению

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

3 Перечень необходимых медицинских изделий, лекарственных средств, биомедицинских клеточных продуктов и др.

1. медицинские изделия, необходимые для получения 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 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 опухолей(ФНО)- α ;
- дибутирил-цАМФ, 7-аминоактиномицин Д;
- лизат опухоли пациента и/или синтетические пептиды антигенов MUC1 и WT1;
- моноклональные антитела к антигенам человека CD83, CD209;
- среда тиогликолиевая и среда Сабуро;
- флаконы для культур клеток T25;
- наконечники стерильные объемом 1–20 мкл, 20–200 мкл, 100–1000 мкл, 1–5 мл;
- пробирки центрифужные стерильные объемом 15 мл и 50 мл;
- чашки Петри;
- средства индивидуальной защиты;

– гемоцитометр с сеткой Горяева;

3. медицинская техника, необходимая для получения БМКП в соответствии с ГНПА, утвержденными в установленном порядке:

– ламинарный шкаф 2В класса защиты;

– инкубатор углекислотный;

– проточный цитофлюориметр;

– микроскоп инвертированный;

– центрифуга с ротором для пробирок емкостью 15 и 50 мл;

– автоматические дозаторы переменного объема;

– холодильник с морозильной и холодильной камерами (+2–8 °С; –20 °С).

4 Технология использования метода

4.1 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, помещённую 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 часов.

4.2 Получение и контроль качества БМКП

4.2.1. 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 суток 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.

4.2.2. На 5-е сутки 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 сутки в увлажненной атмосфере с 5 % CO² при 37 °С.

4.2.3. На конечной стадии получения БМКП суспендируют в растворе 0,9 % растворе хлорида натрия в концентрации 1×10^7 /мл.

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

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

4.2.6. Для определения жизнеспособности БМКП используют 7-аминоактиномицин Д. Учет результатов проводят на проточном цитофлуориметре.

4.2.7. БМКП считают прошедшим контроль качества при экспрессии молекулы CD83 – более 50 %, молекулы CD209 – более 90 %, жизнеспособности – более 85 %, отсутствии контаминации бактериями и дрожжеподобными грибами.

4.3 Введение БМКП

4.3.1. Введение БМКП осуществляют в процедурном кабинете.

4.3.2. Перед первым введением БМКП для предотвращения возможных аллергических реакций немедленного типа проводят кожный тест, для чего вводят подкожно в область медиальной поверхности предплечья 0,1 мл взвеси клеток. Наблюдают за состоянием пациента на протяжении 30 минут. 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.

4.3.3. 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.

4.3.4. Повторяют этапы 4.1 – 4.1.1. и 4.3.3. инструкции 4 раза с интервалом в 2–3 недели.

4.3.5. Через 1 месяц с момента завершения этапов 4.1. – 4.3.4. 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.

4.3.6. В случае, если лечение эффективно, повторяют этапы 4.1 – 4.1.1. и 4.3.3. – 4.3.5. инструкции через 2–3 месяца.

5 Перечень возможных осложнений или ошибок при выполнении и пути их устранения

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