

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**



УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Е.Л.Богдан

Е.Л. Богдан 2021 г.

Регистрационный № 190–1220

**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ РЕЦИДИВОМ
МЫШЕЧНО-НЕИНВАЗИВНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ,
С ПРИМЕНЕНИЕМ БИМЕДИЦИНСКОГО КЛЕТОЧНОГО
ПРОДУКТА НА ОСНОВЕ АУТОЛОГИЧНЫХ ДЕНДРИТНЫХ
КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: государственное научное учреждение «Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси», учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», учреждение здравоохранения «Минский городской клинический онкологический диспансер»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. Гончаров А.Е., д-р. мед. наук, проф. Прохоров А.В., канд. биол. наук Антоневиц Н.Г., Тимохина О.В., Прохоров В.А.

Минск, 2020

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод лечения рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря (РМП) с применением биомедицинского клеточного продукта на основе аутологичных дендритных клеток (ДК), который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение РМП.

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

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

1.1 Медицинские изделия, необходимые для получения крови из периферической вены и выполнения подкожной инъекции БМКП;

1.2 Биомедицинский клеточный продукт на основе аутологичных ДК, внесенный в Государственный реестр биомедицинских клеточных продуктов Республики Беларусь, или другой биомедицинский клеточный продукт на основе аутологичных ДК, соответствующий следующим требованиям:

- 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 30 %;
- стерильность: стерильно (далее – БМКП).

1.3 Медицинские изделия, реагенты и расходные материалы, необходимые для подготовки БМКП в соответствии с утвержденными ТНПА:

- среда бессывороточная для культивирования БМКП;

- градиент плотности фиколл-пак 1077 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(ИЛ)-4, фактор некроза опухолей(ФНО)- α ;
- дибутирил-цАМФ;
- 7-аминоактиномицин Д;
- 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 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.

1.4 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 (поддержание температуры от -24 до -18 °С) и холодильной (поддержание температуры от $+2$ до $+10$ °С) камерами.

2 Показания к применению

Злокачественное новообразование мочевого пузыря (С67 по МКБ-10).

3 Противопоказания к применению

Острые или хронические заболевания в стадии декомпенсации, беременность, 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, медицинских изделий и лекарственных средств, необходимых для реализации метода, изложенного в инструкции.

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 40–100 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 1077 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, по 10 мкг синтетических пептидов MUC1 и WT1. ДК культивируют 1 сутки в увлажненной атмосфере с 5 % CO₂ при 37 °С.

4.2.3 Суспендируют в 0,9 % растворе хлорида натрия в концентрации 1×10^6 /мл – 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 общепринятыми методами.

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 30 %, молекулы CD209 – более 90 %, жизнеспособности – более 85 %, отсутствии контаминации бактериями и дрожжеподобными грибами.

4.3 Введение БМКП

4.3.1 Для реализации целей настоящей инструкции может быть использован БМКП, произведенный в соответствие с п. 4.2 настоящей инструкции, либо БМКП на основе аутологичных ДК, внесенный в Государственный реестр биомедицинских клеточных продуктов Республики Беларусь, либо иной БМКП на основе аутологичных ДК, соответствующий следующим требованиям:

- 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 30 %;

- стерильность: стерильно

Введение БМКП осуществляют в процедурном кабинете.

4.3.2 Перед первым применением БМКП для предотвращения возможных аллергических реакций немедленного типа проводят кожный тест, для чего вводят подкожно в область медиальной поверхности предплечья 0,1 мл БМКП. 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 места каждого введения.

4.3.4 Повторяют этапы 4.1 – 4.2 и 4.3.3 метода 4 раза с интервалом в 2–3 недели.

4.3.5 Через 1 месяц с момента завершения этапов 4.1–4.3.4 метода 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 4.1–4.2 и 4.3.3–4.3.5 метода через 2–6 месяцев.

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.