

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

2013 г.

Регистрационный № 091-0913



**МЕТОД КОТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ УСКОРЕНИЯ
ПРИЖИВЛЕНИЯ АЛЛОГЕННОГО ТРАНСПЛАНТАТА
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Государственное учреждение

«Республиканский научно-практический центр детской онкологии,
гематологии и иммунологии»

АВТОРЫ:

Исайкина Я.И., к.б.н., Марейко Ю.Е., Алейникова О.В., член-
корреспондент НАНБ, д. м. н., профессор.

Минск, 2013

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Д.Л. Пиневиц

09.12.2013

Регистрационный № 091-0913

**МЕТОД КОТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ УСКОРЕНИЯ ПРИЖИВЛЕНИЯ
АЛЛОГЕННОГО ТРАНСПЛАНТАТА ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-практический
центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»

АВТОРЫ: канд. биол. наук Я.И. Исайкина, Ю.Е. Марейко, д-р мед. наук, проф.,
чл.-кор. НАН Беларуси О.В. Алейникова

Минск 2013

Настоящая инструкция по применению (далее — инструкция) предназначена для врачей-гематологов и врачей-трансплантологов организаций здравоохранения, других врачей-специалистов, оказывающих медицинскую помощь пациентам, у которых по протоколу лечения производится аллогенная трансплантация костного мозга.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Проточный цитофлуориметр.
2. Наборы моноклональных антител для определения поверхностных клеточных маркеров CD34, CD45, CD105, CD90, CD73.
3. Ламинарный шкаф 2-го класса защиты для проведения процессинга по получению биотрансплантата МСК.
4. CO₂-инкубатор для роста культуры МСК.
5. Центрифуга.
6. Микроскоп инвертированный.
7. Культуральные флаконы на 175 см² для роста МСК.
8. Пипетки серологические на 10 и 25 мл.
9. Пробирки центрифужные на 15 и 50 мл.
10. Камера Горяева.
11. Среда для клеточных культур Дюльбекко в модификации Искова (IMDM).
12. Эмбриональная телячья сыворотка.
13. Трипсин-ЭДТА, раствор 0,25%.
14. Фиколл-1077 Гистопак.
15. 0,9%-й раствор NaCl.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в случае низкого содержания фракции CD34+ клеток в аллогенном трансплантате ГСК или применения аллогенных ГСК от несовместимого по HLA антигену донора, что сопряжено с задержкой приживления трансплантата.

Необходимым условием является получение письменного информированного согласия родителей или пациентов об использовании биотрансплантата мезенхимальных стволовых клеток (МСК) для котрансплантации.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Метод предназначен для лечения при выполнении аллогенной трансплантации ГСК в случае содержания в трансплантате CD34+ клеток менее $2,5 \times 10^6$ /кг, что ограничивает использование этого коллекционного продукта для

трансплантации, или в случае применения аллогенного трансплантата, полученного от несовместимого по HLA-антигенам донора.

Этап 1. Принятие решения о применении биотрансплантата МСК для котрансплантации с ГСК в случае отнесения пациента к группе риска значительной задержки восстановления гемопоэза в раннем посттрансплантационном периоде и приживления ГСК донора (большой вес реципиента, агрессивная предшествующая химиолучевая терапия, несовместимость реципиента и донора по HLA-антигенам и др.).

Этап 2. Получение биотрансплантата МСК из костного мозга аллогенного донора ГСК или «стороннего» донора.

2.1. Обследование потенциального донора костного мозга для МСК сразу после принятия решения о котрансплантации МСК. Доноры МСК должны иметь отрицательный результат анализа на ВИЧ, вирусы гепатита С (HCV) и гепатита В (HBV), человеческий вирус Т-клеточной лейкемии (HTLV), сифилис и, желателно, совместимы по цитомегаловирусному статусу с реципиентом.

2.2. Эксфузия костного мозга в объеме 20–50 мл у донора посредством костномозговой пункции под локальной анестезией за 20–30 сут до проведения трансплантации ГСК.

2.3. Выделение популяции МСК из мононуклеарных клеток костного мозга и культивирование их в IMDM в концентрации $2-3 \times 10^6$ /мл.

2.4. Нарращивание эффективного для выполнения трансплантации количества МСК путем проведения 2–3 пассажей (пересевов) клеток при получении 80–95% конфлюэнтного слоя с обязательным контролем отсутствия бактериальной контаминации для клеток каждого пассажа.

2.5. Получение биотрансплантата МСК в количестве не менее $0,3 \times 10^6$ /кг веса пациента.

2.6. Идентификация полученных *in vitro* МСК по наличию поверхностных маркеров CD105, CD90, CD73. Биотрансплантат МСК должен содержать не менее 90% клеток с поверхностными маркерами CD105, CD90 и CD73.

2.7. Исследование МСК каждого пассажа на стерильность. Для инфузии применяются только трансплантат МСК с отрицательными показателями по всему спектру возможной бактериальной и вирусной контаминации.

Мероприятия 2.1–2.7 этапа 2 осуществляются согласно общепринятым методикам.

Этап 3. Котрансплантация МСК совместно с ГСК для ускорения восстановления посттрансплантационного гемопоэза у пациентов.

3.1. МСК отмывают дважды в физиологическом растворе и разводят в 20 мл физиологического раствора с 5% альбумином для дальнейшего введения.

3.2. Суспензию МСК в течение 24 ч после трансплантации ГСК вводят пациенту внутривенно в течение 10 мин.

3.3. Ежедневно осуществляют анализ показателей периферической крови пациента до получения параметров, характеризующих приживление трансплантата, а именно: количество лейкоцитов в анализе периферической крови должно быть ≥ 1000 /мкл (1×10^9 /л), нейтрофилов — ≥ 500 /мкл ($0,5 \times 10^9$ /л), ретикулоцитов — $\geq 0,1\%$ в течение 3 дней.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

При четком соблюдении заданий этапов ошибки и осложнения отсутствуют.

Несоблюдение последовательности выполнения этапа 2 может привести к потере клеток в биотрансплантате МСК, потере их жизнеспособности.