



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **18039** (13) **U**
(51) МПК (2006)
A61M 1/38

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ДІТЕЙ

1

(21) u200605193

(22) 12.05.2006

(24) 16.10.2006

(46) 16.10.2006, Бюл. № 10, 2006 р.

(72) Павлик Сергій Володимирович, Климнюк Григорій Іванович, Балицька Оксана Володимирівна

(73) ІНСТИТУТ ОНКОЛОГІЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

(57) Спосіб отримання стовбурових клітин периферичної крові у дітей, що включає стимуляцію

2

гранулоцитопоезу колонієстимулюючим фактором із заповненням екстракорпорального об'єму еритроцитарною масою, який **відрізняється** тим, що колонієстимулюючий фактор вводять самостійно у високих дозах, кількість крові, що обробляється, за один сеанс досягає 3-5 об'ємів циркулюючої крові дитини, а при проведенні колекції дітям з масою тіла менше 15 кілограмів використовують контур, попередньо заповнений еритроцитарною масою з фізіологічним розчином.

Корисна модель відноситься до галузі медицини, зокрема - до дитячої онкології, і може використовуватись для отримання стовбурових клітин для підтримки гемопоєзу при лікуванні злоякісних солідних новоутворень у дітей.

Солідні новоутворення займають значне місце (54%) в структурі злоякісних новоутворень у дітей. Серед причин смерті чільне місце посідають рецидиви основного захворювання та прогресування хвороби на фоні стандартного лікування. Одним із методів вирішення проблеми підвищення ефективності хіміотерапії є застосування підтримки гемопоєзу стовбуровими клітинами крові [1,2].

Основним джерелом стовбурових клітин крові є кістковий мозок. Стимулюючи проліферацію та вихід стовбурових клітин із кісткового мозку у периферичну кров, можна досягти збільшення їх в крові у 100-500 разів. Шляхом апаратного лейкоцитозезу проводять обробку великої кількості крові, щоб отримати необхідну кількість стовбурових клітин периферичної крові, які пізніше будуть використані для підтримки гемопоєзу при лікуванні злоякісних солідних новоутворень у дітей [3].

Основним методом отримання стовбурових клітин периферичної крові (СКПК) є застосування клітинного сепаратора крові після стимуляції гранулоцитопоезу цитостатиками та колонієстимулюючим фактором (КСФ)[4]. Значно рідше у дітей з злоякісними солідними новоутвореннями використовують стимуляцію тільки колонієстимулюючим фактором [5].

Окремої уваги заслуговують хворі з масою тіла менше 15 кілограм, у яких проведення процедури

забору пов'язане з ризиком виникнення дефіциту циркулюючої крові внаслідок великого екстракорпорального об'єму системи лейкофезу. У дітей, де екстракорпоральний об'єм перевищує 25% об'єму циркулюючої крові, необхідно проводити заповнення системи лейкофезу еритроцитарною масою [6,7].

Прототипом запропонованого способу отримання стовбурових клітин периферичної крові у дітей є спосіб, описаний G. Kumlien, A. Losvall. У дітей з масою тіла менше 15 кілограм екстракорпоральний об'єм заповнюється еритроцитарною масою, що розведена свіжорозмороженою плазмою, а за один сеанс обробляється 2 об'єми циркулюючої крові дитини. [G. Kumlien, A. Losvall. Successful collection of peripheral blood stem cells from a four-month old infant with neuroblastoma and a body weight of 5700g //Bone Marrow Transplantation. - 2003. - Vol. 31, Suppl. 1. - P 794.]

Позитивним у прототипі є те, що така методика отримання стовбурових клітин дозволяє провести процедуру відносно безпечно для життя, оскільки знижує ймовірність виникнення важких ускладнень.

Недоліком прототипу є те, що при такому способі отримання стовбурових клітин периферичної крові у дітей обробляється 2 об'єми циркулюючої крові дитини. Щоб отримати необхідну кількість стовбурових клітин, такі процедури доводиться проводити декілька днів підряд. Оскільки висока концентрація СКПК в периферичній крові може бути короткотривалою, серія таких нетривалих сеансів лейкофезу не гарантує забір необхідної

(19) **UA** (11) **18039** (13) **U**

кількості стовбурових клітин; розведення донорської еритроцитарної маси плазмою, часто від іншого донора, робить процедуру дорожчою та збільшує ризик перенесення інфекцій через продукти крові в 2 рази.

В основу корисної моделі поставлено задачу - створити спосіб отримання стовбурових клітин периферичної крові у дітей шляхом використання КСФ у великих дозах, заповнення екстракорпорального об'єму розчиною фізіологічним розчином еритроцитарною масою, та обробки за одну процедуру лейкоферезу великого об'єму крові, що дасть можливість отримати достатню кількість стовбурових клітин периферичної крові за 1-2 процедури, а також зробити проведення її більш безпечним.

Поставлена задача вирішувалась таким чином:

Процедура отримання стовбурових клітин периферичної крові розпочинають з самостійного призначення колонієстимулюючого фактора (G-CSF) у дозі 10-15мг/кг маси тіла дитини один раз на добу підшкірно. Колонієстимулюючий фактор продовжують застосовувати до останнього дня лейкоферезу у встановленій дозі. Лейкоцитозферез проводять на апараті з безперервним потоком крові "Frezenius AS-104 та AS TEC-204". Використовують програму для отримання стовбурових клітин периферичної крові та системи "C4Y". За сеанс лейкоцитозферезу обробляють 3-5 об'ємів циркулюючої крові дитини. У дітей з масою менше 15 кілограм для зменшення екстракорпорального об'єму крові застосовують заповнення системи лейкоферезу донорською еритроцитарною масою.

Напередодні лейкоцитозферезу встановлюють групову та резус-сумісність еритроцитарної маси. Асептично, у стерильному герметичному флаконі проводять розбавлення донорської еритроцитарної маси стерильним фізіологічним розчином натрію хлориду. Еритроцитарну масу та фізіологічний розчин змішують у співвідношенні 1:2, що забезпечує гематокрит 0,30.

Показаннями до застосування запропонованого способу отримання стовбурових клітин периферичної крові є діти, що отримували хіміотерапевтичне чи променеве лікування та виснажили резервні можливості свого кісткового мозку та діти з масою тіла менше 15 кілограм.

Перевагою запропонованого способу є виключення додаткового токсичного впливу цитостатиків, що використовуються в стандартних режимах стимуляції гранулоцитопоезу, відмова від використання донорської плазми для розбавлення еритроцитарної маси, що зменшує ймовірність перенесення інфекцій через продукти крові, обробка за один сеанс великого об'єму крові дитини, що забезпечує отримання необхідної кількості стовбурових клітин за один чи два сеанси лейкоцитозферезу.

Клінічні випробування способу проведені у відділенні дитячої онкології Інституту онкології АМН України при отриманні стовбурових клітин периферичної крові у дітей, хворих на злоякісні солідні новоутворення.

За даною методикою отримано стовбурові клітини у 7 хворих. Чинниками ефективності запро-

понованого способу були: отримання більшої кількості стовбурових клітин периферичної крові за один сеанс, покращення переносимості процедури лейкоцитозферезу, здешевлення процедури отримання стовбурових клітин.

Переконливим доказом ефективності застосування запропонованого способу отримання стовбурових клітин периферичної крові у дітей є витяги з історій хвороб 2 хворих.

I. Дитина: Л.А., 2 роки (18.06.2001р). Діагноз: Тератобластома заднього середостіння, правого геміоторакса, 3ст., Рецидив місцевий, метастази в головний мозок) 2кл гр.

ПГВ №11438-9/03 (28.05.03) - В досліджуваному матеріалі елементи тератобластоми.

Анамнез хвороби: хворіє з квітня 2002 року, коли помітили підвищення температури до 38С.

Проведене лікування: 26.06.03р. - Торакотомія, відкрита біопсія пухлини. ПГВ №11438-9/03 (28.05.03) - В досліджуваному матеріалі елементи тератобластоми.

Проведено 4 блоки "PEI" за протоколом "MA-KEI-96" (Іфосфамід-500мг 1-5, Цис-платина-8мг 1-5, Етопозид- 33мг 1-3).

17.09.03 - видалення пухлини заднього середостіння.

Проведено 2 блоки за схемою "ICE" (Іфосфамід-600мг 1-5, Карбплатина-133мг 1-2, Етопозид - 33мг 1-5). Ускладнення: лейкопенія 4ст, тромбопенія 4ст., геморагічний синдром.

Закінчив спец лікування.

Червень 2004 року КТ (29.06.04)- місцевий рецидив.

Отримав 3 протирецидивних блоки (Паклітаксел-70мг 1,5,9, Цис-платина-54мг 9)

21.09.04 - Видалення рецидива.

5.10.04 - було призначено колонієстимулюючий фактор «Непоген» у дозі 140г маси тіла дитини один раз на добу підшкірно. Колонієстимулюючий фактор продовжували застосовувати до останнього дня лейкоферезу у встановленій дозі. Напередодні лейкоцитозферезу перевірено групову та резус-сумісність еритроцитарної маси. Асептично, у стерильному герметичному флаконі було проведено розбавлення донорської еритроцитарної маси стерильним фізіологічним розчином натрію хлориду. Еритроцитарну масу та фізіологічний розчин змішали у співвідношенні 1:2, що забезпечило гематокрит 0,30. За сеанс лейкоцитозферезу обробили 3 об'єми циркулюючої крові дитини.

14.10.04 - проведено лейкоцитозферез на апараті з безперервним потоком крові "Frezenius AS TEC-204". Використовували програму для отримання стовбурових клітин периферичної крові та системи "C4Y". За сеанс лейкоцитозферезу було оброблено 3 об'єми циркулюючої крові дитини. За одну процедуру отримано $4,8 \times 10^6$ /кг маси тіла СКПК.

II. Дитина: Л.В., 3,9 роки (11.12.99р). Діагноз: нейросаркома заочеревинного простору, метастази в лімфовузлі середостіння, парааортальні, кістковий мозок 4ст.

ПГВ №1532-4/04 - елементи нейробластоми.

Анамнез хвороби: Захворів в квітні 2003 року.

Отримав 4 блоки хіміотерапії за протоколом

"NB-97". Лікування ускладнювало лейкопенією 4ст., тромбопенією 4ст., геморагічним синдромом.

03.03.04 - видалено пухлину заочеревинного простору, нефректомія зліва.

Отримав 4 блоки хіміотерапії за протоколом "NB-97"

01.04.04 - розпочато стимуляція гранулоцитопоезу препаратом граноцит 265мкг один раз на добу підшкірно. Колонієстимулюючий фактор продовжували застосовувати до останнього дня лейкоферезу у встановленій дозі. Напередодні лейкоцитозу перевірено групову та резус-сумісність еритроцитарної маси. У стерильному герметичному флаконі було проведено розбавлення донорської еритроцитарної маси стерильним фізіологічним розчином натрію хлориду. Еритроцитарну масу та фізіологічний розчин змішали у співвідношенні 1:2, що забезпечило гематокрит 0,30.

09.04.04р - проведено лейкоцитозферез на апараті з безперервним потоком крові "Frezenius AS TEC-204". Використовували програму для отримання стовбурових клітин периферичної крові та системи "C4Y". За сеанс лейкоцитозферезу було оброблено 3 об'єми циркулюючої крові дитини. За одну процедуру отримано $14,5 \times 10^6$ /кг маси тіла СКПК.

Таким чином, у результаті отримання стовбурових клітин периферичної крові у дітей шляхом застосування колонієстимулюючого фактора у високих дозах, заповнення екстракорпорального об'єму розчиною фізіологічним розчином еритроцитарною масою, та обробкою за одну процедуру лейкоферезу великого об'єму крові, дає можливість отримати достатню кількість стовбурових

клітин периферичної крові за 1-2 процедури, а також зробить проведення її більш безпечним.

Джерела інформації

1. Successful treatment of stage III neuroblastoma based on prospective biologic staging: a Children's Cancer Study Group study /K. Matthay, C. Perez, R. Seeger et al. //J. Clin. Oncol. - 1998. - Vol. 16, №4. - P. 156-1264.

2. Пушкарева С.Г. Исторические аспекты трансплантации аллогенного костного мозга //Проблемы ТКМ и стволовых клеток периферической крови. -М, 1999.-С. 7-12.

3. Takeyama K, Ohto H. PBSC mobilization //Transfus Apheresis Sci. - 2004. - Vol. 31, №3. - P. 233-243.

4. Румянцев А.Г., Масчан АА. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей: Руководство для врачей. - М.: Медицинское информационное агентство, 2003. - 912С.

5. Stem cell harvest using peripheral interarterial lines in children /M.C. Dolendo, P.L. Tan, M.L. Tan et al. //Medical and Pediatric Oncology. - 2003. - Vol. 41, №4.-PD 038.

6. Sevilla J., Diaz M.A., Fernandez-Plaza S. Risks and methods for peripheral blood progenitor cell collection in small children //Transfus Apheresis Sci. - 2004. - Vol. 31, №3.-P. 221-231.

7. Strahlendorf C. Optimizing peripheral stem cell mobilization and harvest in very small children /J. Clin. Apheresis. - 2005. - Vol. 12. - P. 212-213.

8. G. Kumlien, A. Losvall. Successful collection of peripheral blood stem cells from a four-month old infant with neuroblastoma and a body weight of 5700g //Bone Marrow Transplantation. - 2003. - Vol. 31, Suppl. 1. - P 794. (прототип).