

Министерство образования и науки Республики Саха (Якутия)  
Государственное бюджетное нетиповое образовательное  
учреждение «Республиканский лицей-интернат»

# Дендритно-клеточная вакцина как вид иммуноотерапии при онкологических заболеваниях

Выполнил:

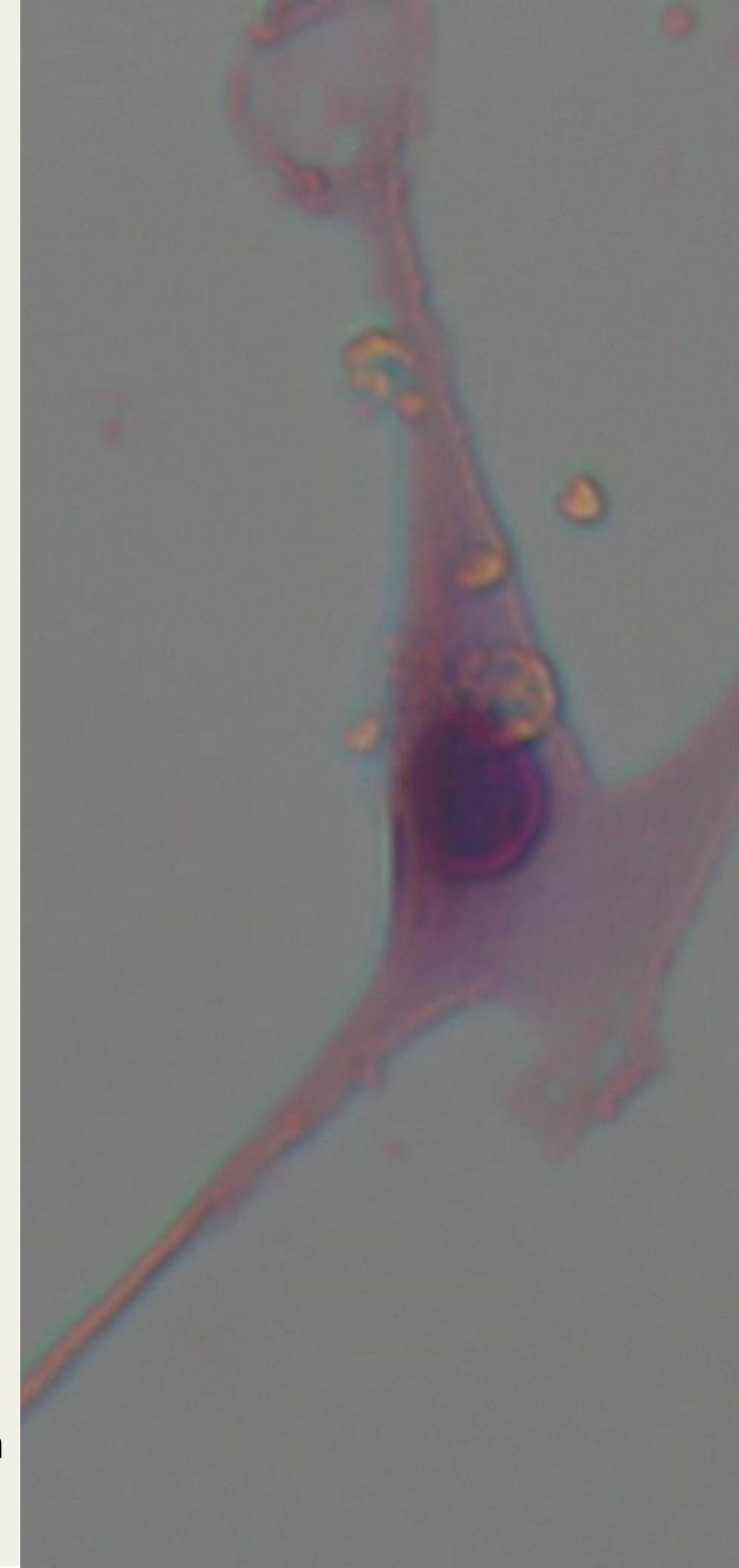
Колесов Ярослав Егорович,  
ученик 10 класса

Наставник:

Узнаева Арина Андреевна, студентка 2 курса  
Медицинского института

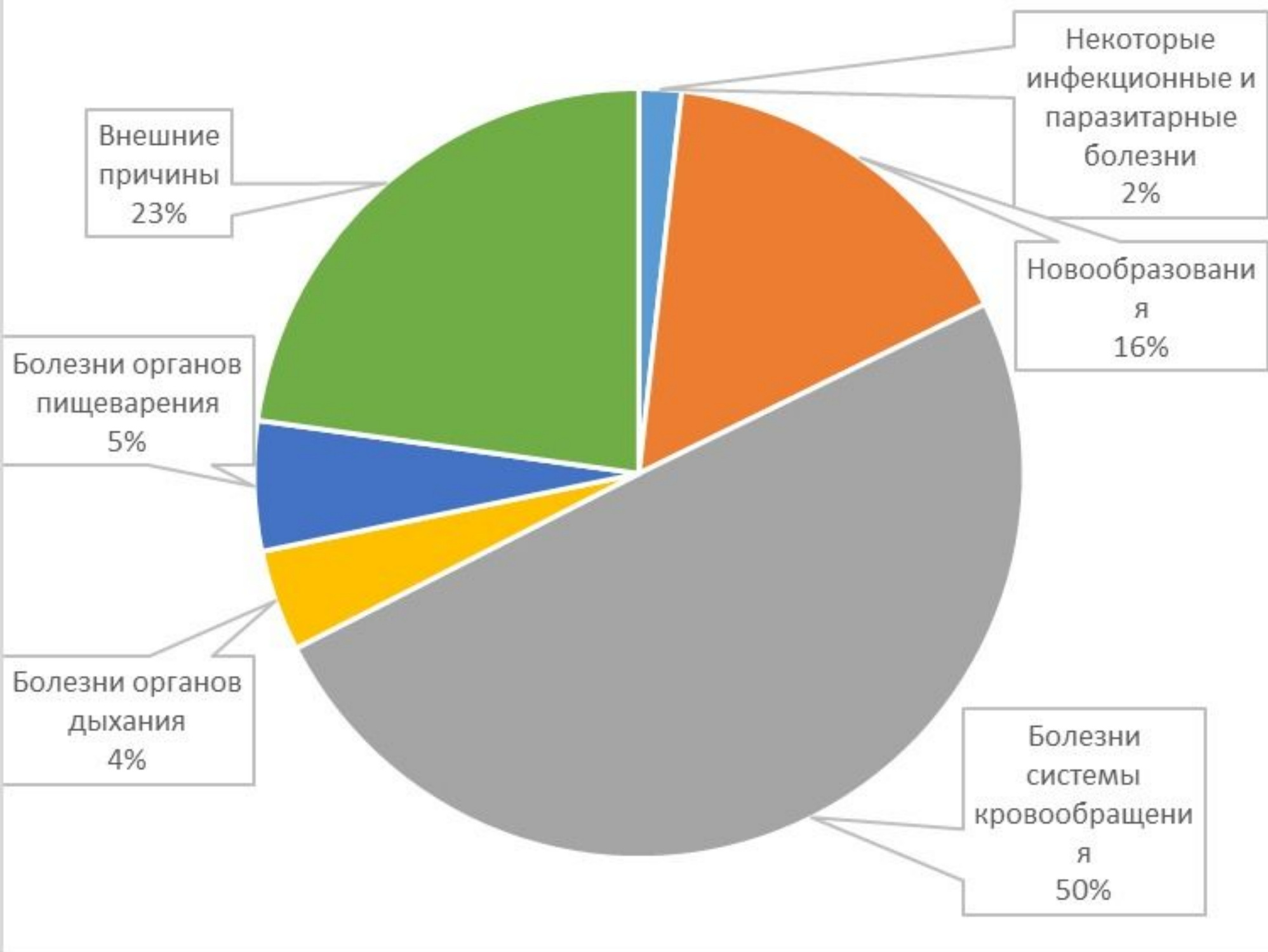
Научный консультант:

д.м.н. Гольдерова Айталипа Семёновна, ЛМБ  
Медицинский институт СВФУ им. М.К. Аммосова



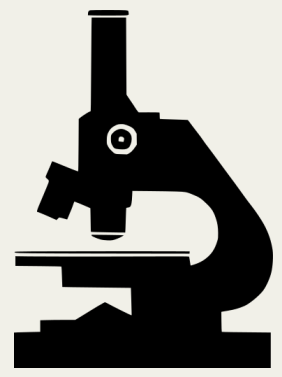
# Актуальность

УМЕРШИЕ ПО ОСНОВНЫМ КЛАССАМ ПРИЧИН СМЕРТИ 1990-2021 гг. в РС(Я)



Показатель смертности от злокачественных новообразований занимает третье место после смертности от болезней системы кровообращения и смертности от внешних причин

Иммунотерапия с помощью аутологичной дендритно-клеточной вакцины имеет ряд преимуществ над традиционными методами лечения рака (химиотерапия, лучевая терапия), за счет чего является перспективным методом лечения.



# Цель

Оценить по морфологическим характеристикам особенности созревания дендритных клеток, культивированных *in vitro*.

# Задачи



- Изучить доступный научный материал по противоопухолевой дендритноклеточной вакцине
- Ознакомиться с методом культивирования дендритных клеток в условиях *in vitro*
- Провести анализ снимков дифференцировки моноцитов в дендритные клетки в динамике.

# Иммунотерапия и дендритные клетки

– это специализированная группа антигенпрезентирующих клеток с высокой функциональной пластичностью, которые проявляют иммуностимулирующий потенциал.

**Морфологически дендритные клетки** – крупные клетки (15-20) мкм, круглой формы, с эксцентрически расположенным ядром, многочисленными длинными разветвленными отростками мембраны

**Иммунотерапия** аутологичной дендритно-клеточной вакциной имеет ряд преимуществ среди методов лечения рака: иммунитет не ослабевает, можно предотвращать метастазы, точечное действие на клетки рака.





# Этапы приготовления онковакцины

Забор крови, выделение МКПК на градиенте фиколл

Посадка моноцитов в культуральные флаконы

Культивирование в течение 10 дней в условиях 37°C + 5% CO<sub>2</sub>

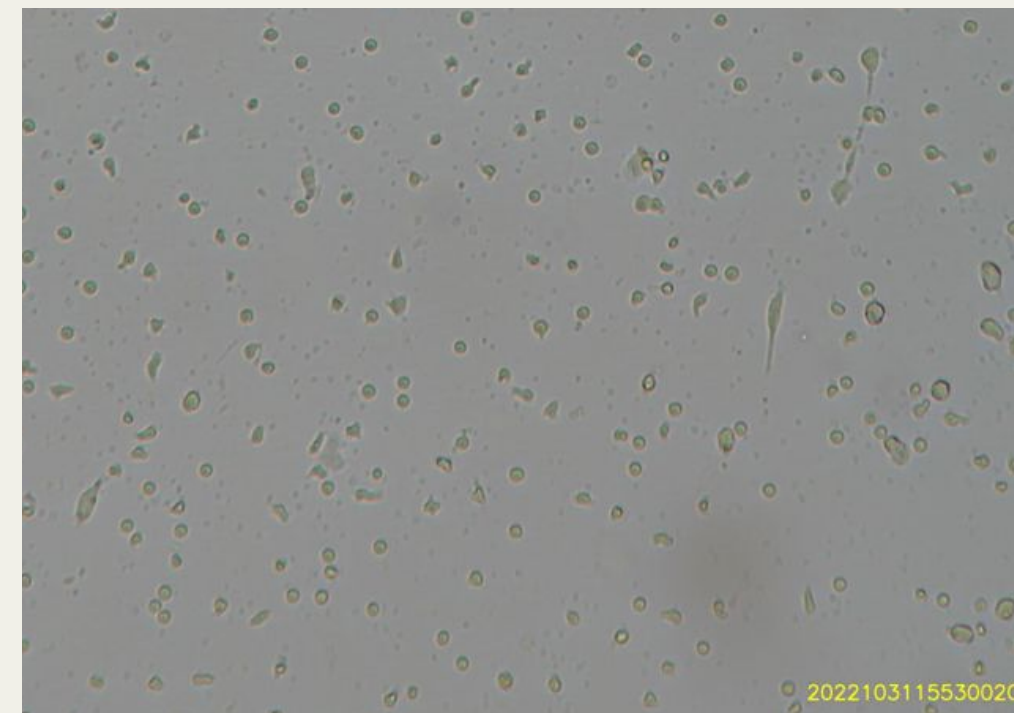
Нагрузка ОАА-лизатом на 7 день

1. 18 мл венозной крови забирается в пробирке ЭДТА центрифугируем 10 мин при 1000 оборотах
2. Добавляем в пробирку с фиколлом кровь+RPMI и снова центрифугируем
3. Забираем слой мононуклеаров

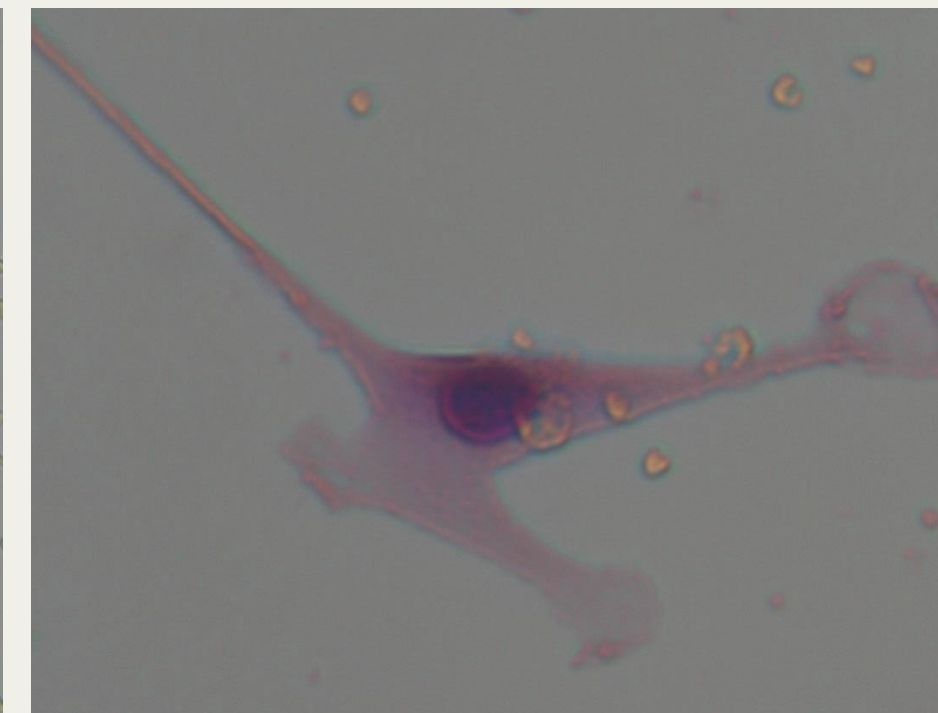
4. Во флакон вносим ресуспензированные клетки без среды, + 10 мл RPMI
5. Инкубация 1.5 часа, ждать адгезии клеток
6. Сливаем среду, +ППС 3мл (RPMI-20% PBS)

Культивирование в течение 10 дней. Добавление 40мкл цитокина на 1, 3, 5 и 7 дни (GM-SCF и IL-4 и TNF-a)

На 7-е сутки культивирования для созревания ДК вносят ОАА, исходя из соотношения 1 ДК : 3 лизированные опухолевые клетки, факторы ростовые и дифференцировки

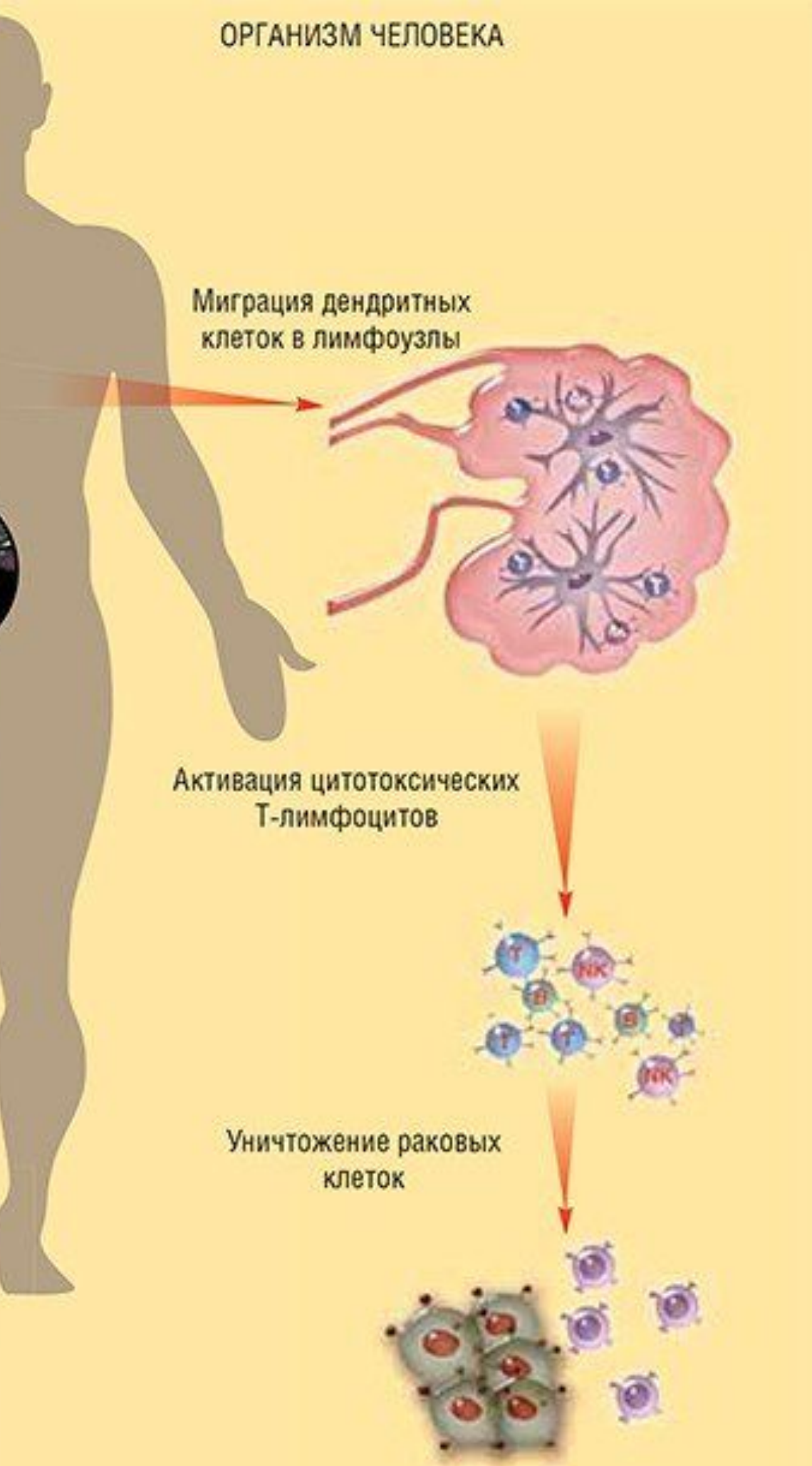


Инвертированный микроскоп, увел. 10x



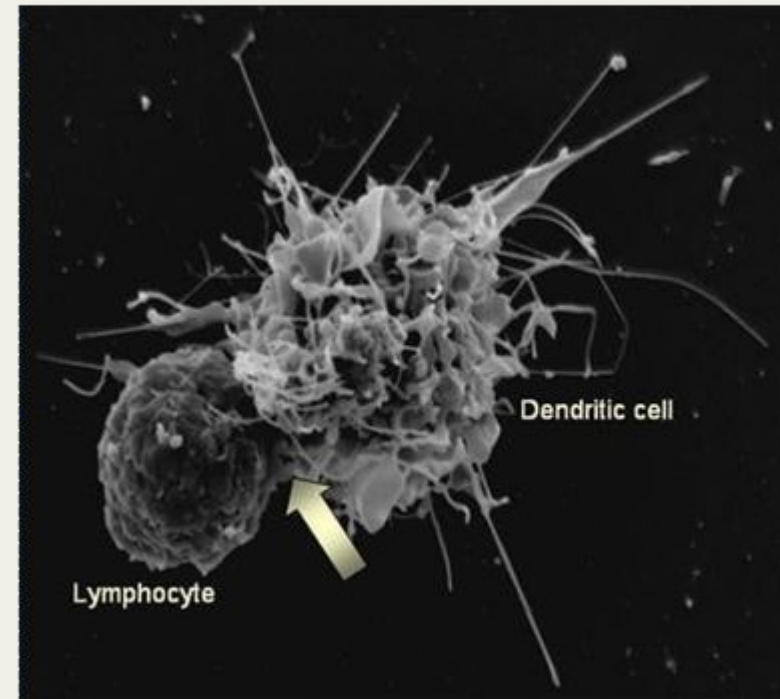
увел. 40x



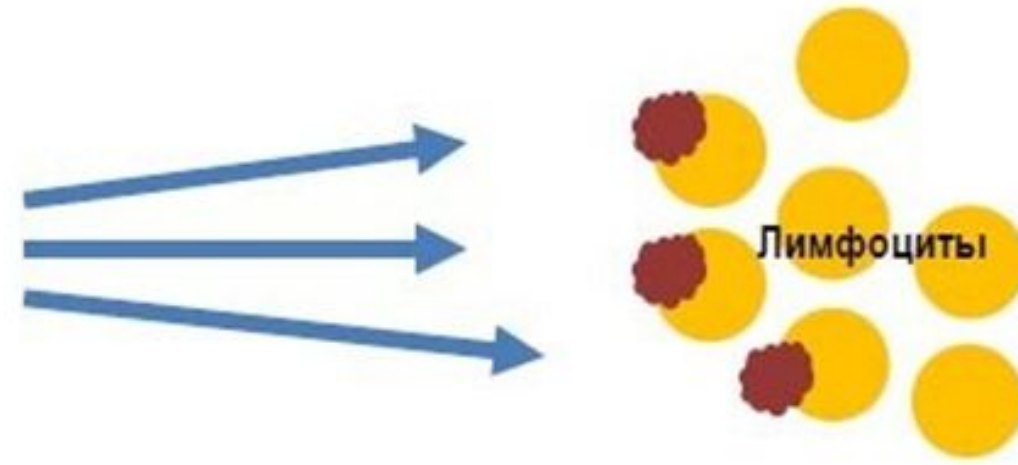


# Механизм действия вакцины

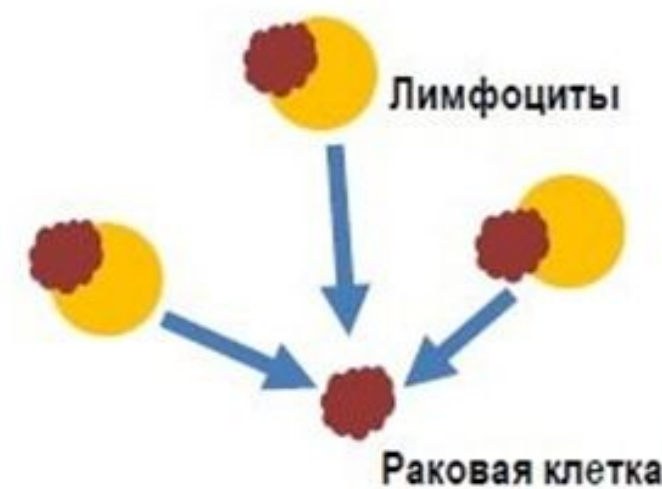
## вакцины



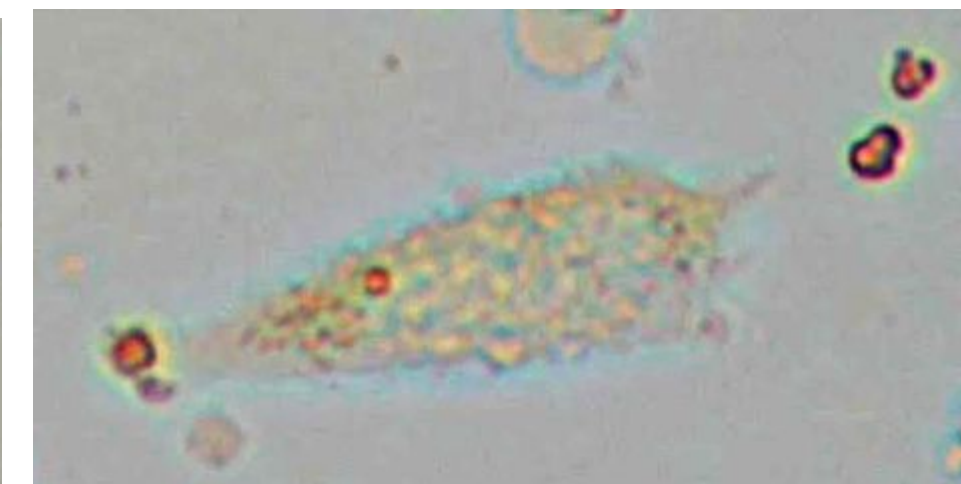
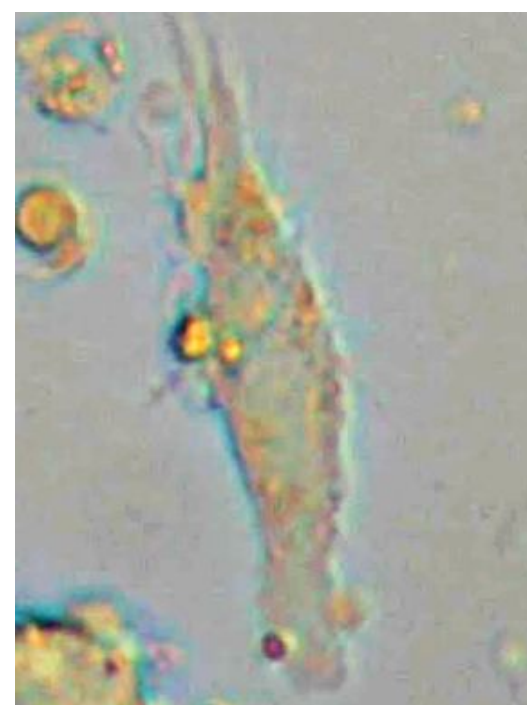
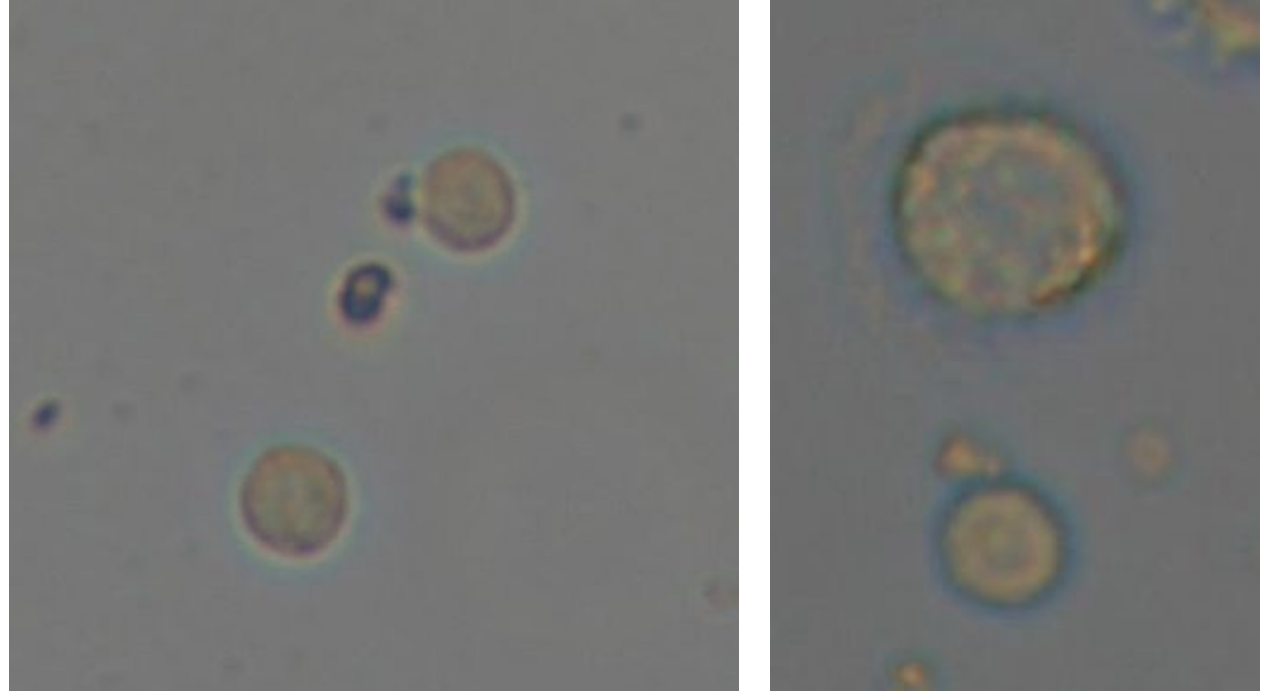
1 ДК нагружаются раковыми структурами и получают «мишени».



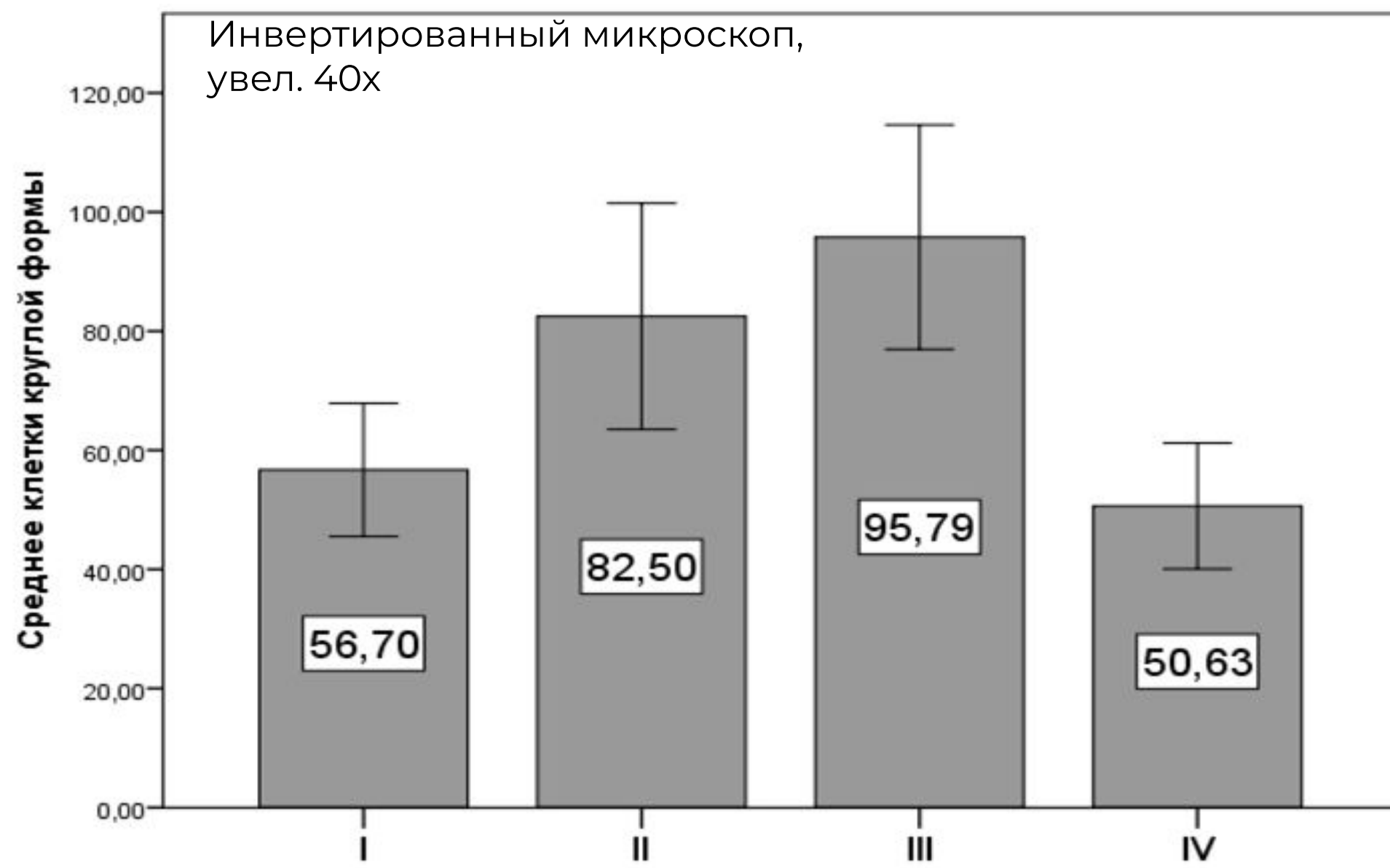
2 ДК презентуют раковые «мишени» лимфоцитам и руководят атакой на раковые клетки.



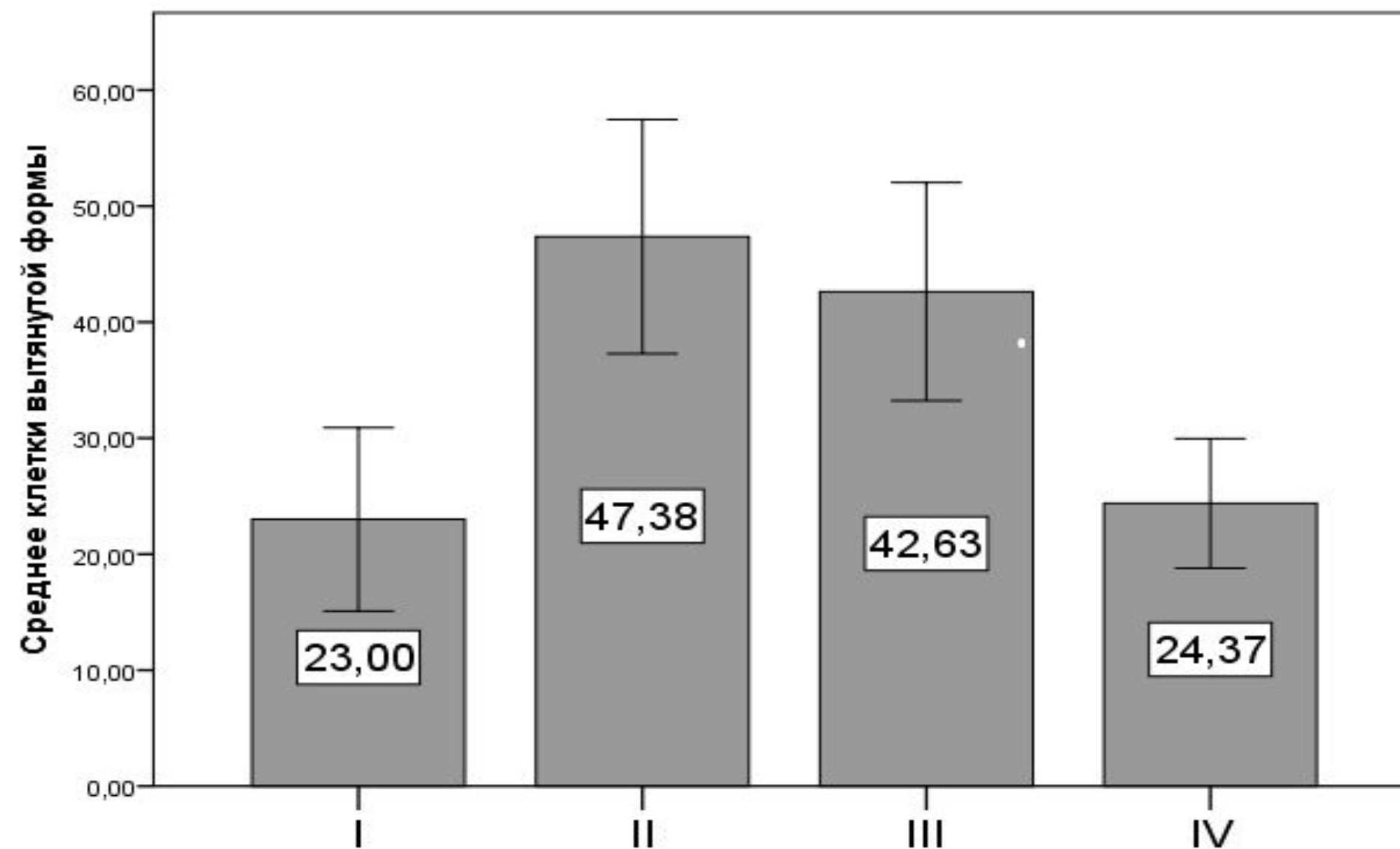
3 Запомнившие раковые «мишени» лимфоциты атакуют только раковые клетки.



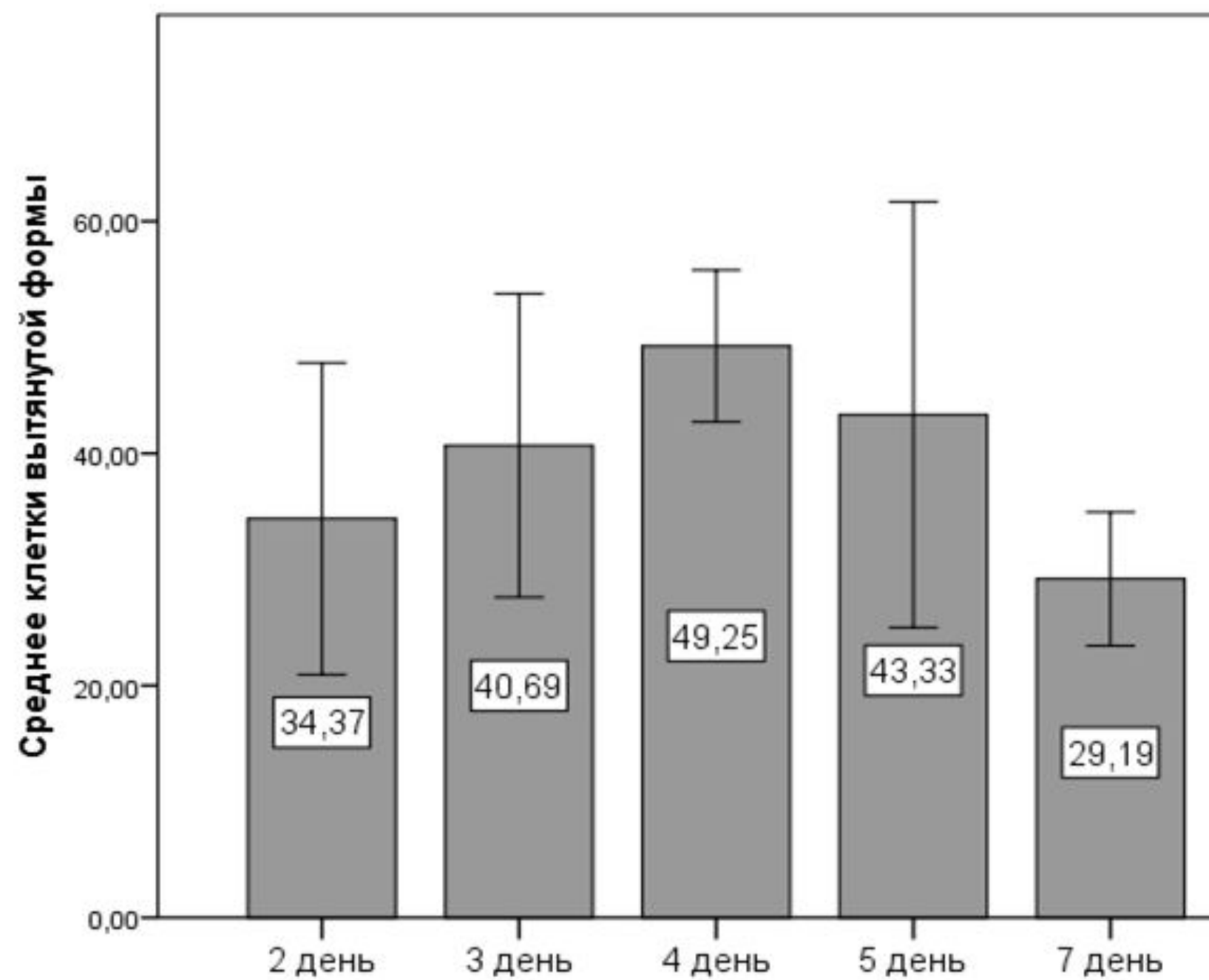
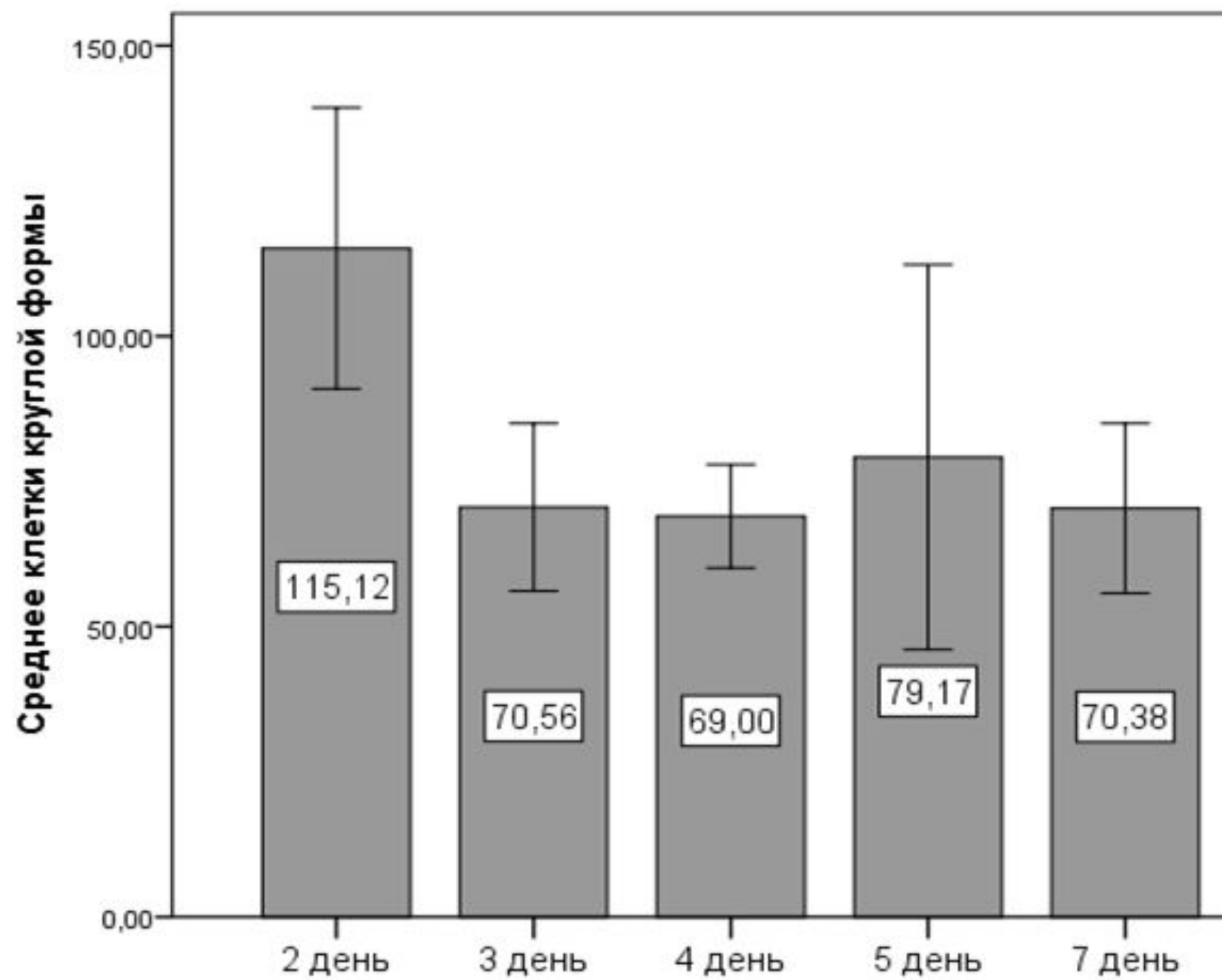
Инвертированный микроскоп,  
увел. 40х



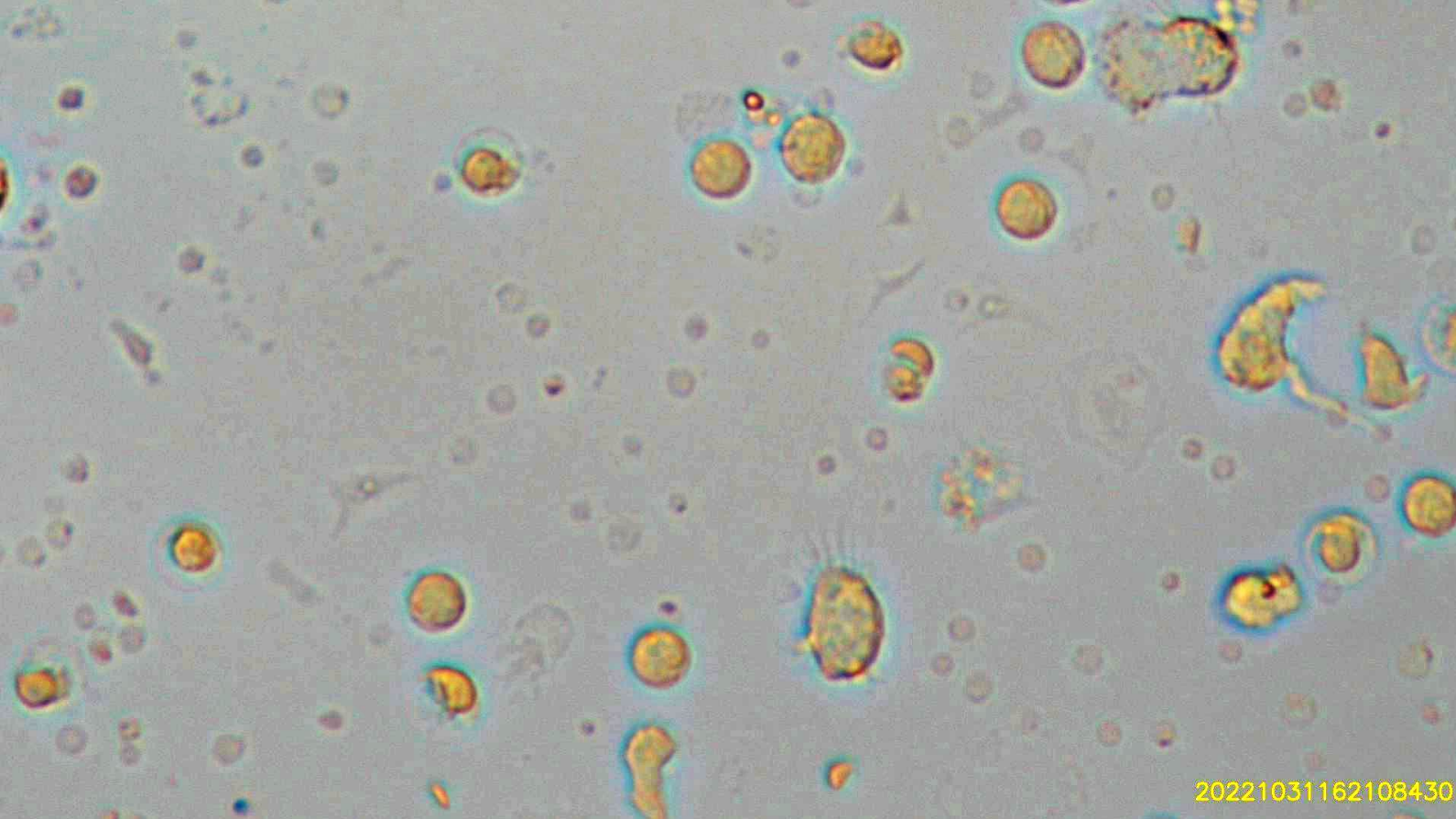
Столбцы ошибок: 95% дов. инт.



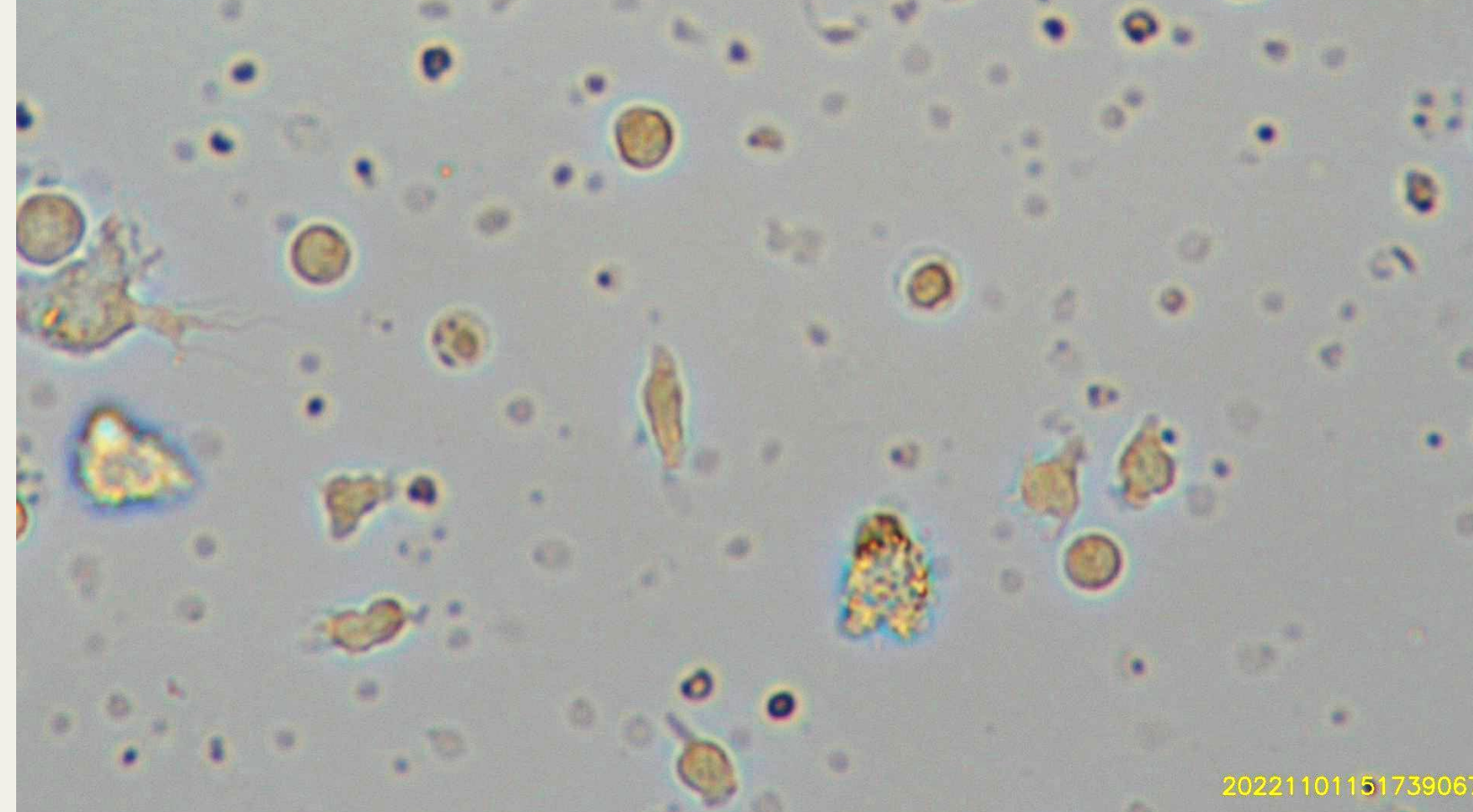
Столбцы ошибок: 95% дов. инт.







2 день, II

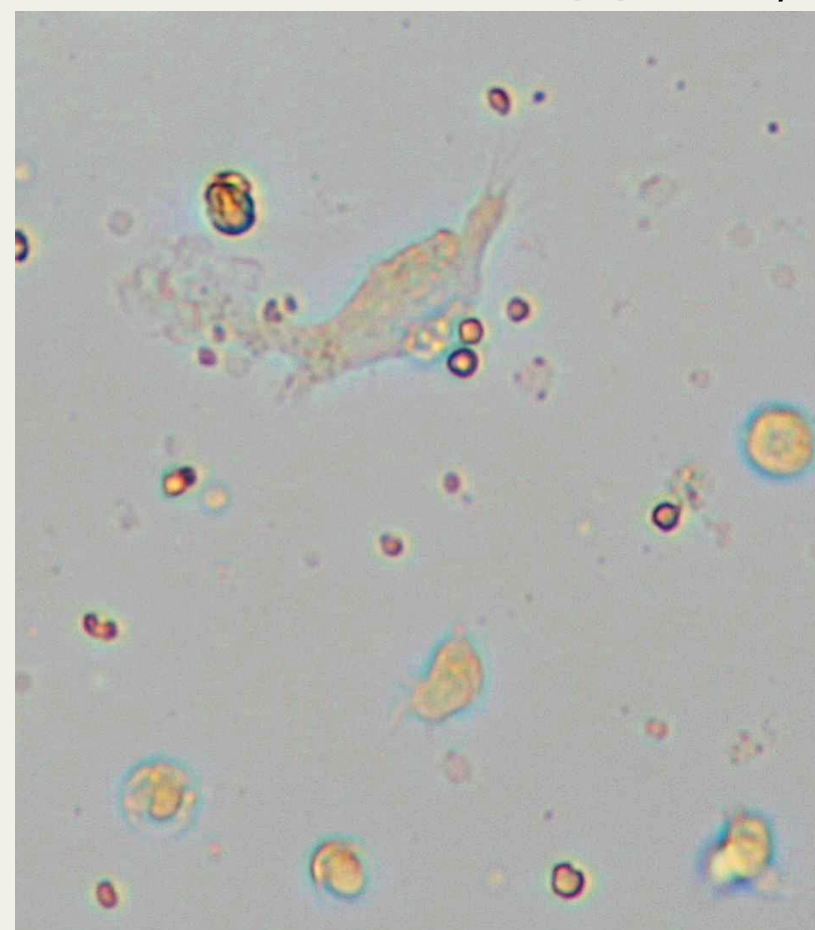


3 день, I



4 день, VI

Инvertированный микроскоп,  
увел. 40x

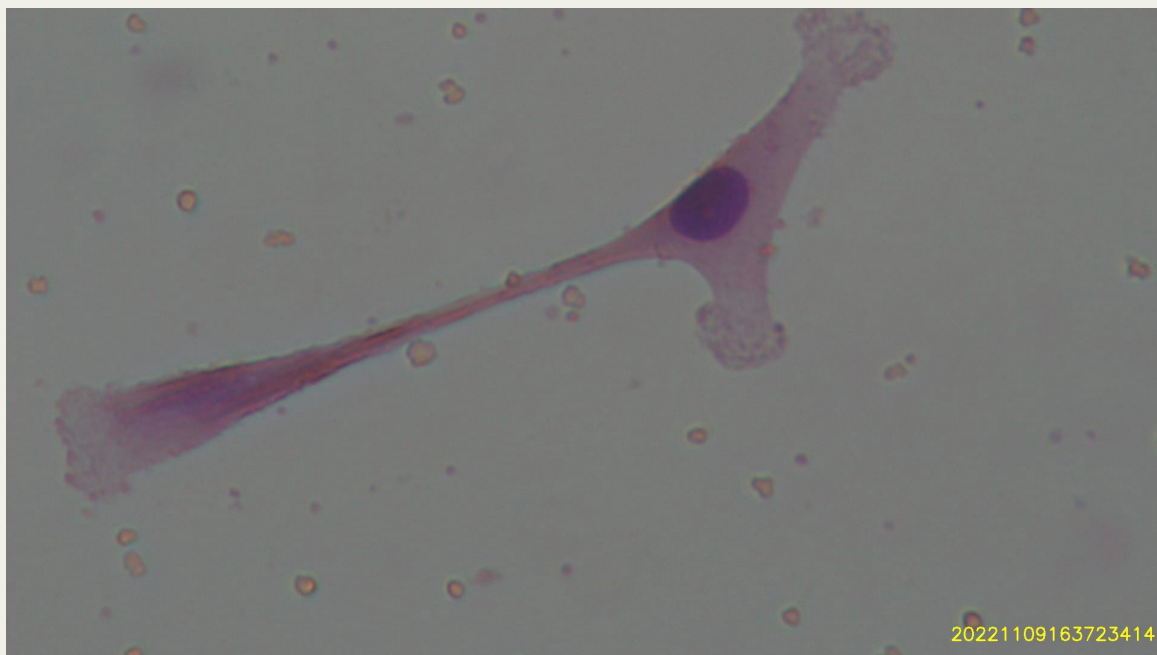


5 день, II

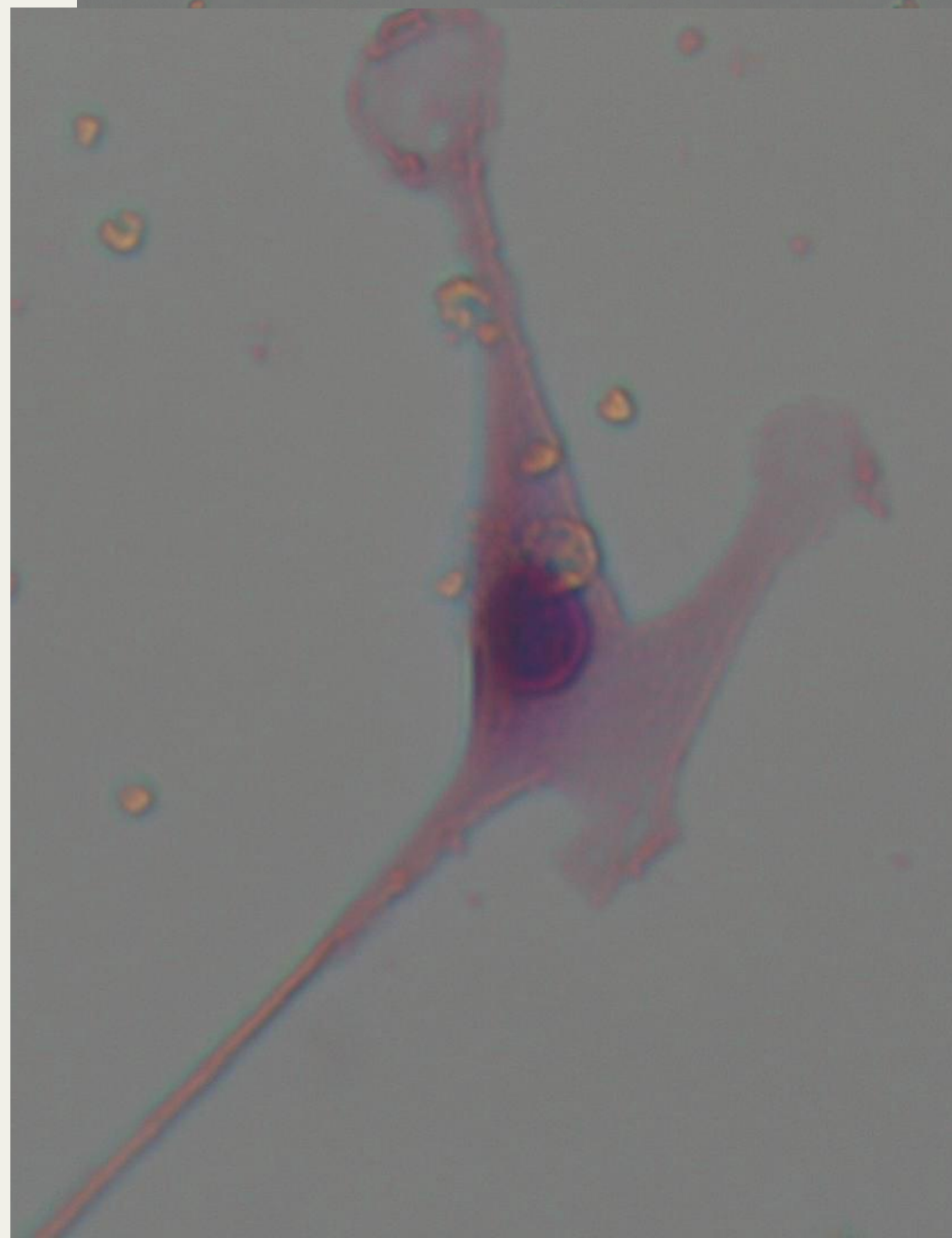


7 день, I

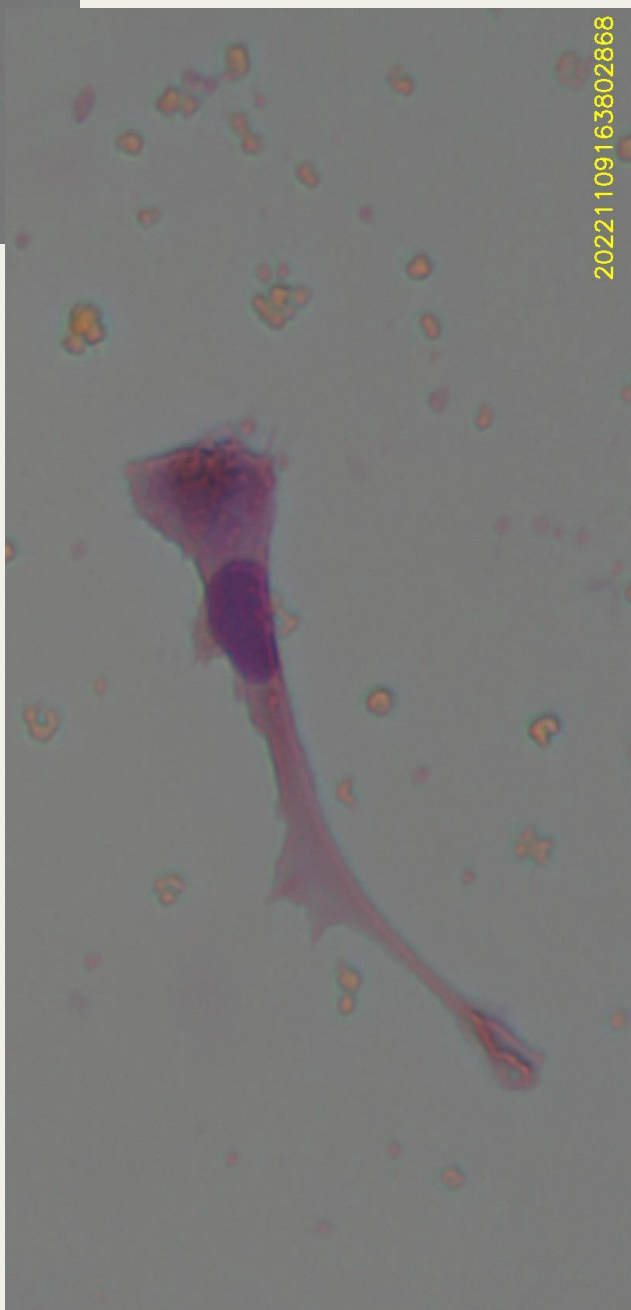
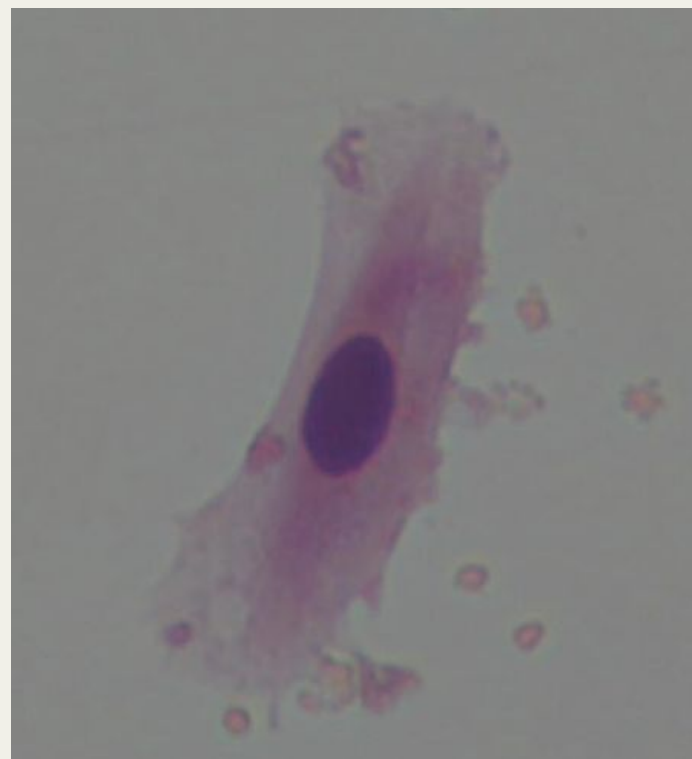




20221109163723414



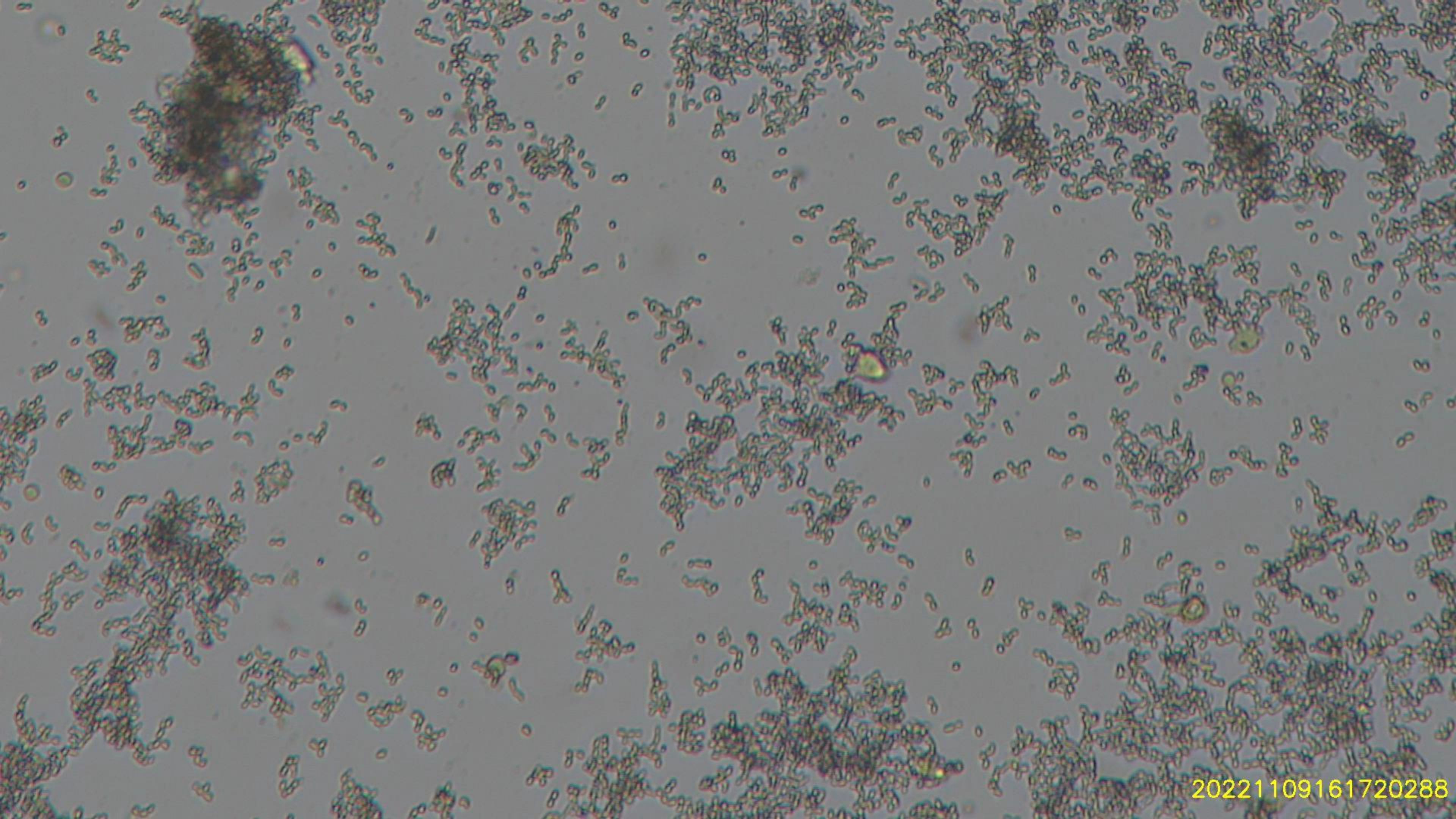
Инвертированный микроскоп,  
увел. 40x



20221109163802868







20221109161720288



# Выводы

- Изучение теоретического материала посвящённого противоопухолевым дендритно-клеточным вакцинам показало, что иммунотерапия является более специфичной, эффективной, безопасной, по сравнению с другими традиционными методами лечения и перспективной.
- Ознакомились с технологией приготовления онковакцины, которая освоена в лаборатории медицинских биотехнологий МИ СВФУ и, в дальнейшем возможно, её технология внедрение в клиническую практику для лечения онкобольных.
- Проведён анализ снимков дифференцировки моноцитов в дендритные клетки в динамике, которое показало, различную степень индивидуального созревания клеток, которое зависит от функциональных состояний каждого добровольца.

Получен полезный опыт ошибки при культивировании. В дальнейшем мы будем готовы к таким казусам.

# СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Морфологические особенности и иммунофенотип дендритных клеток, полученных из моноцито периферической крови человека / Khalturina E.O., Lebedinskaya O.V., Shubina I.J. et al. // Morphology. – 2004. – № 3. – С. 89.]
2. Гистология, эмбриология, цитология: учебник для вузов [Электронный ресурс] / Под ред. Э.Г. Улумбекова, Ю.А.Челышева. - 3-е изд. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – режим доступа <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970421307.html>.
3. Ковальчук Л.В. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – с. 43.
4. Моисеенко В. М., Волков Н. М. История иммунотерапии рака // Практическая онкология. – 2016. – Т. 17, № 2. – С. 53-61.
5. Тихомирова А. В., Горячев Д. В., Меркулов В. А., Лысикова И. В., Губенко А. И., Зебрев А. И., Соловьева А. П., Ромодановский Д. П., Мельникова Е. В. Доклинические и клинические аспекты разработки биомедицинских клеточных продуктов // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2018. – Т. 8, № 1. – С. 23-35.
6. ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ НОВООБРАЗОВАНИЯ В РОССИИ В 2021 ГОДУ (ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ И СМЕРТНОСТЬ) Под редакцией А.Д. КАПРИНА, В.В. СТАРИНСКОГО, А.О. ШАХЗАДОВОЙ



**Спасибо за внимание!**