

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
имени Н.Н. Петрова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России)

Отдел учебно-методической работы

**Балдуева И. А., Нехаева Т. Л., Проценко С. А.,
Новик А. В., Данилова А. Б., Авдонкина Н. А.,
Пипиа Н. П., Зозуля А. Ю., Емельянова Н. В.,
Кузнецова А. И., Блохина М. Л., Просекина Е. А.,
Скачкова О. В., Гирдюк Д. В., Анохина Е. М.,
Семенова А. И., Латипова Д. Х., Телетаева Г. М.,
Кулева С. А., Семиглазов В. Ф., Новиков С. Н.,
Рогачев М. В., Беляев А. М.**

Дендритноклеточные вакцины в иммунотерапии больных солидными опухолями

Учебное пособие

Санкт-Петербург
2020

УДК: 615.277.3:616-006(07)

ББК: 55.6я7

Рецензент: доктор медицинских наук, профессор, врач высшей квалификационной категории, главный научный сотрудник, клинический иммунолог ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России Калинина Наталия Михайловна.

Д33 Балдуева И. А., Нехаева Т. Л., Проценко С. А., Новик А. В., Данилова А. Б., Авдонкина Н. А., Пипиа Н. П., Зозуля А. Ю., Емельянова Н. В., Кузнецова А. И., Блохина М. Л., Просекина Е. А., Скачкова О. В., Гирдюк Д. В., Анохина Е. М., Семенова А. И., Латипова Д. Х., Телетаева Г. М., Кулева С. А., Семиглазов В. Ф., Новиков С. Н., Рогачев М. В., Беляев А. М.

Дендритноклеточные вакцины в иммунотерапии больных солидными опухолями: учебное пособие для врачей и обучающихся в системе высшего и дополнительного профессионального образования. – СПб.: НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, 2020. – 128 с.

ISBN 978-5-6042210-8-2

В учебном пособии представлен алгоритм выбора места иммунотерапии в общем плане лечения больных злокачественными новообразованиями. Алгоритм основан на собственном 20-летнем опыте использования различных методов иммунотерапии и результатах основных отечественных и зарубежных исследований по их применению у больных онкологического профиля. Применение метода позволяет увеличить вероятность достижения лечебного эффекта и снизить риски, связанные с лекарственной терапией, что приводит к улучшению качества жизни больных.

Учебное пособие предназначено для врачей-онкологов, для врачей, работающих с онкологическими больными, для научных сотрудников, участвующих в процессах изучения различных проблем рака, а также для обучающихся в системе высшего образования (аспирантура, ординатура, специалитет) и дополнительного профессионального образования (повышение квалификации, профессиональная переподготовка).

УДК: 615.277.3:616-006(07)

ББК: 55.6я7

Утверждено в качестве учебного пособия

Ученым советом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России
протокол № 1 от 28 января 2020 г.

ISBN 978-5-6042210-8-2

© Балдуева И. А. Коллектив авторов, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений	5
Введение	8
Глава 1. Основы иммунотерапии злокачественных опухолей	10
1.1. История иммунотерапии рака	11
1.2. Общие принципы иммунотерапии в онкологии	13
1.3. Иммуноопосредованные нежелательные явления	19
Глава 2. Дендритные клетки и их роль в противоопухолевом иммунном ответе	23
2.1. Типы дендритных клеток	24
2.2. Плазмоцитоидные дендритные клетки	26
2.3. Миелоидные дендритные клетки: иммунофенотип и функциональная активность	26
2.4. Распознавание и презентация опухолеспецифических ан- тигенов дендритными клетками	28
Глава 3. Рекомендации по работе в стерильных лабораторных условиях	30
3.1. Общие требования к помещениям	30
3.2. Общие требования к персоналу	34
Глава 4. Технология приготовления дендритноклеточной вакцины (ДК-вакцины)	39
4.1. Материально-техническое обеспечение	39
4.1.1. Оборудование	39
4.1.2. Реагенты, расходные материалы	41
4.2. Описание медицинской технологии	43
4.2.1. Забор периферической крови	43
4.2.2. Дифференцировка ДК	43
4.2.3. Криоконсервация ДК	45
4.2.4. Размораживание ДК	45
4.2.5. Технология приготовления опухолевого лизата, содержащего раковотестикулярные антигены (РТА+)	48
Глава 5. Рекомендации по клиническому применению имму- нотерапии на основе аутологичных компонентов крови с им- мунологическим адьювантом у пациентов с солидными опу- холями	49
5.1. Применение адьювантного режима иммунотерапии у па- циентов с солидными опухолями	49
5.2. Применение поддерживающего режима иммунотерапии у пациентов с солидными опухолями	49

5.3. Применение иммунотерапии у пациентов с солидными опухолями с исчерпанными возможностями системной терапии	50
5.4. Условия и критерии иммунотерапии у пациентов с солидными опухолями	53
5.5. Противопоказания для назначения иммунотерапии у пациентов с солидными опухолями	54
5.6. Схемы лечения при различных режимах иммунотерапии	55
5.7. Условия прекращения иммунотерапии	56
5.8. Оценка проводимой терапии и маркёров чувствительности к терапии	56
5.9. Сопутствующее лечение в период применения иммунотерапии	60
Глава 6. Проточная цитометрия	61
6.1. Общие принципы проточной цитометрии	61
6.2. Оценка содержания субпопуляций лимфоцитов у онкологических больных с помощью проточной цитометрии	64
6.3. Анализ иммунофенотипических маркёров лимфоцитов и их основных субпопуляций	65
6.4. Тактика гейтирования при исследовании субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток периферической крови	67
6.5. Анализ экспрессии иммунофенотипических маркёров дендритных клеток	73
Контрольные вопросы	79
Тестовые задания	84
Список литературы	124

Список сокращений

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АПК	– антигенпрезентирующая клетка
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
БМКП	– биомедицинский клеточный продукт
ГЗТ	– гиперчувствительность замедленного типа
ГКС	– глюкокортикостероид
ГНТ	– гиперчувствительность немедленного типа
ДК	– дендритная клетка
ДМСО	– диметилсульфоксид
ИК	– интерлейкин
июНЯ	– иммуноопосредованные нежелательные явления
ИРИ	– иммунорегуляторный индекс
ИС	– иммунная система
ИСО	– индивидуальный стандарт обучения
ИСФ	– иммуносупрессирующие факторы
ИФА	– иммуноферментный анализ
МкАт	– моноклональные антитела
МНК	– мононуклеары периферической крови
нг	– нанограмм
мкг	– микрограмм
мкм	– микрометр
мл	– миллилитр
МНК	– мононуклеарные клетки
ОАА	– опухолеассоциированные антигены
НЯ	– нежелательные явления
НМРЛ	– немелкоклеточный рак легкого
ПЗ	– прогрессирование заболевания
РМЖ	– рак молочной железы
РТА	– раково-тестикулярные антигены
СК	– стволовая клетка
СКПК	– стволовая клетка периферической крови
СЗ	– стабилизация заболевания
ЧР	– частичный регресс
ЧСС	– частота сердечных сокращений
ФГА	– фитогемагглютинин
ЦТЛ	– цитотоксический Т-лимфоцит
ЭДТА	– этилендиаминтетрауксусная кислота

ALK	– anaplastic lymphoma kinase (киназа анапластической лимфомы)
BCG	– bacillus Calmette-Guérin (бацилла Кальметта-Герена)
BCR	– B-cell receptor (В-клеточный рецептор)
BRAF	– Serine/threonine-protein kinase B-raf (серинтреониновая протеинкиназа B-raf)
CAR	– chimeric antigen receptor (хиимерный рецептор антигена)
CCL	– C-C motif ligand (хемокиновый лиганд)
CD	– cluster of differentiation (кластер дифференцировки)
CTLA-4	– cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген-4)
DC-SIGN	– dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin (лектин типа С, обладающий высокой аффинностью к молекуле клеточной адгезии ICAM3)
EGFR	– epidermal growth factor receptor (рецептор эпидермального фактора роста)
ER	– endoplasmic reticulum (эндоплазматический ретикулум)
FSC	– forward side scatter (показатель прямого светорассеяния)
GLP	– good laboratory practice (надлежащая лабораторная практика)
GMP	– good manufacturing practice (надлежащая производственная практика)
G-CSF	– granulocyte-colony stimulating factor (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор)
GM-CSF	– granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор)
GCP	– good clinical practice (надлежащая клиническая практика)
HER2	– human epidermal growth factor receptor 2 (рецептор эпидермального фактора роста, тип 2)
HLA-DR	– human leukocyte antigens DR isotype (человеческий лейкоцитарный антиген, DR-изотип)

HLA	– human leukocyte antigens (лейкоцитарные антигены человека)
IFN	– interferon (интерферон)
Ig	– immunoglobulin (иммуноглобулин)
IL-4	– interleukin 4 (интерлейкин-4)
KRAS	– protooncogen K-Ras (протоонкоген K-Ras)
MEK	– MAPK/ERK kinase (киназа MAPK/ERK)
MHC	– major histocompatibility complex (главный комплекс гистосовместимости)
mTOR	– mammalian target of rapamycin (мишень рапамицина млекопитающих)
NK	– natural killer cells (натуральный киллер)
NKT	– natural killer T-cell (натуральные киллеры с T-клеточным рецептором)
NRAS	– neuroblastoma RAS viral oncogene homolog (вирусный онкоген RAS нейробластомы)
PAP	– pulmonary alveolar proteinosis (легочный альвеолярный протеиноз)
PD-1	– programmed cell death 1 (белок запрограммированной гибели клеток 1)
ROS1	– ROS proto-oncogene 1 (ROS протоонкоген 1)
RUSSCO	– Russian Society of Clinical Oncology (Российское общество клинической онкологии)
SSC	– side scatter (показатель бокового светорассеяния)
TSA	– tumor-specific antigen (опухолеспецифический антиген)
TCR	– T-cell receptor (T-клеточный рецептор)
TNF- α	– tumor necrosis factor alpha (фактор некроза опухоли альфа)
Toll-like receptors	– толл-подобные рецепторы
VEGF	– vascular endothelial growth factor (фактор роста эндотелия сосудов)

Введение

Дендритные клетки – это специализированная группа антиген-презентирующих клеток с высокой функциональной пластичностью, которые проявляют иммуностимулирующий или иммуносупрессивный потенциал в зависимости от последовательности и комбинации стимулов микроокружения, определяющих их дифференцировку, созревание, активацию. Разработка биомедицинского клеточного продукта (БМКП) на основе аутологичных дендритных клеток (ДК) основана на их способности специфически активированных *in vitro* при введении *in vivo*, мигрировать в лимфатические узлы для презентации антигенов Т-лимфоцитам.

Анализ мировой литературы и информация ведущих организаций в области онкологии (<http://www.fda.gov/> U.S. Food and Drug Administration; <http://www.cancer.gov/> the National Cancer Institute (NIH, USA); <http://www.reportlinker.com/> Industry reports, Company profiles and Market Statistics) свидетельствует о перспективах развития клеточных технологий, что обуславливает внедрение в мировую медицинскую практику препаратов на основе жизнеспособных клеток человека.

Поиск новых возможностей лечения больных злокачественными опухолями является актуальной задачей современной онкологии. Высокий уровень смертности, недостаточная эффективность лекарственного лечения, прорыв в понимании молекулярно-генетических и иммунобиологических механизмов развития рака становятся основополагающими факторами развития фундаментальной и клинической онкологии.

ДК становятся объектом широкого круга исследований, основной целью которых является создание клеточных вакцин, способных корректировать иммунный ответ у больных со злокачественными новообразованиями [15, 22, 28].

Разработка отечественных инновационных (оригинальных) вакцин на основе аутологичных ДК, обладающих эффективностью, безопасностью и надлежащим уровнем качества, отвечает задачам общенациональной программы по борьбе с раком в Российской Федерации.

Решение данной проблемы предполагает использование комплексного подхода к созданию аутологичных противоопухолевых вакцин современными высокотехнологичными методами на основе системного изучения биологических характеристик вакцинного пре-

парата, а также фундаментальных исследований рисков и обеспечения безопасности применения клеточных технологий в медицине.

В настоящее время лидерами в проведении клинических исследований препаратов на основе человеческих клеток и тканей являются США и страны Европейского союза (ЕС), где обращение препаратов на основе клеток человека закреплено на законодательном уровне и подлежит государственному контролю с конца 1990-х годов [4, 5].

К настоящему времени во всем мире зарегистрировано продуктов на основе жизнеспособных клеток человека, разрешенных к клиническому применению всего 31 препарат [2], из них 5 клеточных продуктов для применения в онкологии.

В 2010 году зарегистрирован первый препарат на основе аутологичных дендритных клеток Provenge (Sipuleucel-T) (Dendreon, USA), для лечения метастатического гормонорезистентного рака предстательной железы. Вакцина Provenge представляет собой аутологичные мононуклеарные клетки, включающие антигенпрезентирующие клетки (в том числе дендритные клетки), нагруженные таргетным антигеном PAP, который считается наиболее представленным на поверхности опухолевых клеток рака предстательной железы. Процесс созревания наивных ДК происходит *in vitro* и требует дорогостоящих и сложных в производстве реагентов, таких, как рекомбинантный слитый белок PAP-GM-CSF [8, 9, 14].

В основе разработки БМКП для эффективной иммунотерапии злокачественных новообразований лежит глубокое понимание биологических процессов, протекающих при взаимодействии клеток иммунной системы с опухолью, что делает возможным внедрение высокотехнологичных методов получения БМКП в клиническую практику.

Глава 1.

Основы иммунотерапии злокачественных опухолей

В последние годы появилось огромное количество работ в области биологии и медицины по проблемам онкологических заболеваний, что определяется современными достижениями молекулярной биологии, биохимии, иммунологии и др.

Академик Р. В. Петров еще в 70-е годы утверждал, что тот, кто научится «лечить иммунодефицит, тот научится лечить рак». В настоящее время это подтверждается как экспериментальными исследованиями на животных, так и клиническими наблюдениями [13].

В 2013 году в итоговом номере журнала «Science» достижения в области иммунотерапии опухолей были названы прорывом года. Поводом для этого стали результаты длительного наблюдения больных меланомой после терапии ингибитором CTLA-4 ипилилумабом, результаты ранних фаз исследований ингибиторов PD-1/PD-L1 при меланоме, раке легкого и раке почки, а также работ по адоптивной иммунотерапии с применением аутологичных Т-лимфоцитов с химерным рецептором к CD19 (антигену В-клеток) при хроническом лимфолейкозе и остром лимфобластном лейкозе [12].

Не вызывает сомнений, что именно биологические особенности опухоли определяют гетерогенность иммунологического ответа на опухолевые антигены, различную чувствительность опухолевых клеток к действию киллерных клеток, различия в интенсивности ингибирующего влияния опухоли на иммунокомпетентные клетки, и, как следствие, различную чувствительность к иммунотерапии, химиотерапии, таргетной терапии, лучевой терапии [7, 24].

Под иммунологическими методами терапии опухолей сегодня понимают использование воздействий, направленных на систему взаимодействий опухоли и организма с целью запуска биологических реакций иммунной системы, приводящих к гибели новообразования.

Кроме того, в настоящее время наблюдаются значительные изменения в подходах при выборе лекарственного лечения злокачественных новообразований. Помимо гормонотерапии, химиотерапии и таргетной терапии в лечении опухолей, очевидно, одна из ключевых ролей отведена иммунотерапии [3].

1.1. История иммунотерапии рака

История иммунотерапии опухолей началась с работ американского хирурга Вильяма Коли в конце XIX века. В 1891 году, основываясь на описанных в литературе случаях регресса злокачественных опухолей на фоне острых инфекционных заболеваний, в первую очередь эризипелоида, он ввел возбудителя этой болезни *Erysipelotrix rhusiopathiae* нескольким пациентам с неоперабельными опухолями, что привело к уменьшению новообразований [11].

Механизмы биотерапии, основанной на введении инфекционных агентов и их продуктов, до сих пор полностью не изучены. Однако показана роль воздействия микроорганизмов как на сами опухолевые клетки (цитолитический эффект, потенцирование презентации антигенов, выделение провоспалительных цитокинов), так и на клетки иммунной системы в микроокружении опухоли, конвертируя последнее из состояния иммуносупрессии в состояние активации [26].

В продолжение развития идеи на сегодняшний день изучается применение онколитических вирусов, которые при введении в опухолевый узел способны потенцировать регресс не только подвергнутого инъекции участка, но и остальных опухолевых очагов [19].

Основы нашего современного понимания функционирования иммунной системы закладывались еще с начала XX столетия, когда нобелевский лауреат Пауль Эрлих постулировал, что иммунная система способна распознавать специфически различные субстраты в организме, более того, он же предположил и возможность влияния иммунной системы на опухолевый процесс, предполагая способность антител распознавать определенные мишени в опухоли [6].

Работы Эмиля фон Беринга, так же нобелевского лауреата, разработавшего противодифтерийный антитоксин и вакцину, сформировали представления о сывороточном иммунитете и возможности воздействия на него [25].

В 1957 году Sir Macfarlane Burnet сформулировал теорию иммунного надзора, которая предполагала, что в связи с накоплением мутаций в соматических клетках, которое в конечном итоге может привести к развитию опухоли, должен существовать механизм распознавания и уничтожения этих мутировавших клеток. По мнению автора теории, именно иммунная система является основой этого механизма [10].

Однако из теории следует, что если иммунная система способна распознать и уничтожить опухоль прежде, чем ее можно клинически обнаружить существующими методами, то отсутствие иммунитета должно быть связано с повышением частоты развития опухолей.

И, как это ни удивительно, первые эксперименты на «голых» бестимусных мышах, в организме которых не происходит формирование зрелых Т-лимфоцитов, показали отсутствие различий в частоте опухолей по сравнению с иммунокомпетентными животными [33].

Интерес к теории иммунного надзора тогда несколько ослаб. Однако, как выяснилось позже, отрицательный результат эксперимента был связан не с ложностью теории, а с неадекватностью выбранной модели: у бестимусных мышей большинство звеньев иммунной системы интактны [16].

В 60-е годы множество работ подтвердили значимость клеточного звена иммунной системы как в отторжении трансплантата, так и в защите от перевиваемых опухолей у животных.

Однако до выявления в 1976 году интерлейкина-2, фактора роста Т-лимфоцитов, манипуляции с лимфоцитами в лаборатории были невозможны. С появлением рекомбинантного интерлейкина-2 в 80-е годы XX века начались активные исследования клеточного иммунитета *ex vivo* [27].

Резюмируя вышесказанное, основные этапы изучения противоопухолевой иммунотерапии представлены на рисунке 1.



Рис. 1. Основные этапы изучения противоопухолевой иммунотерапии (оригинальный рисунок).

1.2. Общие принципы иммунотерапии в онкологии

Онкологические заболевания занимают второе место по причине смертности населения во всем мире. Благодаря открытию новых методов диагностики и инновационных технологий в лекарственном лечении, были достигнуты новые высоты в диагностике и лечении злокачественных новообразований.

Иммунотерапия представляет собой наиболее перспективный метод лечения злокачественных опухолей, обладающий уникальными свойствами и особенностями. Это метод воздействия на иммунную систему с целью получения лечебного эффекта при различных заболеваниях, в частности онкологических.

В основании данного метода лечения лежит наличие различных эпитопов и антигенных структур на поверхности опухолевых клеток. Это позволяет иммунной системе организма их распознать и уничтожить.

Однако опухолевые образования имеют механизмы защиты и ускользания от иммунного надзора.

Взаимодействие иммунной системы и опухоли происходит в несколько фаз.

На первой фазе (элиминации) иммунная система может уничтожить практически любую опухоль. Однако изменчивость опухоли и селекция клонов под воздействием иммунной системы позволяют злокачественным клеткам накапливать мутации и переходить к следующим фазам взаимодействия.

На второй фазе (равновесия) иммунная система может сдерживать опухолевый рост, но не в силах уничтожить все злокачественные клетки. Такое состояние равновесия, которое может длиться годами, фактически минимально необходимо для достижения противоопухолевого эффекта. Устойчивый переход к этому или предшествовавшему состоянию и служит целью всей иммунотерапии.

На третьей фазе (ускользания) опухоль приобретает механизмы эффективной защиты от иммунной системы и, соответственно, способность к неограниченному росту. В фазе ускользания опухоль приобретает некоторый контроль над иммунной системой и становится ее регулятором, тогда как последняя подчас работает как необходимый фактор роста.

Таким образом, выделяются следующие механизмы противоопухолевого действия и группы препаратов:

- методы усиления презентации антигена (вакцины, генотерапия);
- методы модуляции активности иммунного синапса (ингибиторы CTLA-4, PD-1, PD-L1);
- методы воздействия на кинетику иммунных процессов (цитокины, неспецифические иммуномодуляторы);
- адоптивная терапия (клеточная, гуморальная);
- методы устранения иммуносупрессирующих факторов (например, эфферентная терапия);
- методы воздействия на опухоль с последующей активацией/индукцией иммунного ответа (виротерапия, физические методы, локальная терапия).

Эффективность применения этих подходов при разных типах злокачественных опухолей характеризуется особенностью механизма действия выбранной группы методов.

Так, цитокины хорошо зарекомендовали себя при опухолях с высокой иммуногенностью, таких, как меланома и рак почки, при которых впервые была доказана возможность излечения отдельных онкологических больных при применении коротких курсов иммунотерапии.

Противоопухолевая вакциноterapia изучалась при значительном количестве разных новообразований и успела продемонстрировать возможность достижения длительных лечебных эффектов при минимальных нежелательных явлениях. Моноклональные антитела стали первой формой таргетной терапии, использующейся в настоящее время практически при всех формах заболевания. При этом иммунологический механизм действия составляет важную часть противоопухолевой активности.

Антиангиогенная терапия, активно внедряющаяся в клиническую практику в первое десятилетие XXI века, также может рассматриваться как иммунотерапия. Это основывается как на форме самих препаратов (моноклональные антитела), так и на известных иммунокорректирующих влияниях этой группы лекарственных средств.

Например, VEGF является одним из иммуносупрессивных факторов, влияющих на эффективность противоопухолевого иммунного ответа, который может быть важным в подавлении воспалительных реакций, поддерживающих рост опухоли.

Мультикиназные ингибиторы с антиангиогенной активностью оказывают существенное воздействие на иммунорегуляторные клет-

ки, такие, как миелоидные супрессорные клетки. Более того, наступление резистентности к такому лечению в значительной степени обусловлено потерей контроля над клетками иммунной системы (ИС) и над продукцией противовоспалительных цитокинов, таких, как интерлейкин-8 (ИЛ-8), в опухолевом микроокружении.

Методы эфферентной терапии, направленные на устранение иммуносупрессирующих факторов из кровотока, также обладают умеренной противоопухолевой активностью и позволяют улучшать результаты применения стандартной противоопухолевой терапии.

Изучение цитостатиков (например, препаратов платины), ингибиторов тирозинкиназ (например, ингибиторов BRAF) показало, что именно иммунологический компонент действия обеспечивает поддержание длительных эффектов терапии данными препаратами.

Успехи внутриопухолевого введения ряда препаратов, прежде всего виротерапии, при которой удавалось индуцировать системный иммунный ответ на локальное воздействие, убедительно демонстрируют активность данной стратегии иммунотерапии.

На основе описанных выше особенностей взаимодействия иммунной системы и опухоли можно выделить следующие принципы иммунотерапии:

- универсальность,
- инертность,
- дуализм,
- комплексность направленного действия.

Универсальность действия иммунотерапевтических средств объясняется, прежде всего, тем, что ключевым действующим элементом всех препаратов данной группы является иммунная система, работа которой осуществляется на основе фиксированного перечня механизмов. Процесс развития иммунного ответа включает в себя ряд важных этапов, представляющих собой мишени для терапевтических воздействий.

Первый этап иммунного ответа характеризуется распознаванием и процессингом антигена, который осуществляется в антигенпрезентирующих клетках. Именно на этом этапе происходит выбор иммуногенных эпитопов, которые могут быть распознаны иммунной системой пациента и на которые может быть получен противоопухолевый иммунный ответ.

На **втором этапе** происходит передача информации о конкретном эпитопе эффекторным и регуляторным клеткам адаптивной иммунной системы. В этот момент осуществляется определение действия относительно данного антигена: элиминация или формирование толерантности. Эту задачу выполняют 2 типа поверхностных сигналов в особой временной структуре, формирующейся при межклеточных контактах иммунных клеток – иммунном синапсе. От результата этого взаимодействия зависит сила, эффективность и направленность иммунного ответа.

На **третьем этапе** происходит процесс накопления эффекторных клеток и выполнение ими основных функций: продукция антител (В-клетки), осуществление цитотоксических реакций (Т-эффекторы) и регуляция процессов, происходящих в адаптивном и врожденном звене иммунной системы при помощи цитокинов и межклеточных взаимодействий (Т-хелперы), выполнение прямой цитотоксической функции без предварительной активации (естественные киллеры – НК-клетки). Результат определяется балансом провоспалительных и иммуносупрессирующих факторов в каждом из компартментов, в которых протекает вышеуказанный процесс (опухолевый очаг, перитуморальная зона, лимфатический узел или лимфоидноподобные структуры, кровь и лимфа), спектром поверхностных сигналов на клетке (регуляторные молекулы, антигенный спектр). Подобный процесс универсальный и происходит при развитии онкологического заболевания.

Соответственно, при воздействии на него, с целью смещения баланса в сторону элиминации опухоли, эффект будет зависеть не столько от самой опухоли, сколько от характера иммунологических отношений между опухолью и иммунной системой у конкретного больного.

Основные виды иммунотерапии

По механизму действия противоопухолевые препараты целесообразно объединить в следующие группы:

- усиление презентации антигена (вакцины, генотерапия);
- модуляция активности иммунологического синапса (ингибиторы CTLA-4, PD-1, PD-L1);
- воздействие на кинетику иммунных процессов (цитокины, неспецифические иммуномодуляторы);
- адаптивная терапия (клеточная, гуморальная);

- устранение иммуносупрессирующих факторов (эфферентная терапия);
- воздействие на опухоль с последующей активацией/индукцией иммунного ответа (виротерапия, физические методы, локальная терапия).

Эффективность применения этих подходов при разных злокачественных опухолях характеризуется особенностью механизма действия выбранной группы методов.

Так, цитокины хорошо зарекомендовали себя при опухолях с высокой иммуногенностью, таких, как меланома и рак почки, при которых впервые была доказана возможность излечения отдельных больных при применении коротких курсов иммунотерапии.

Вакцинотерапия изучалась при значительном количестве разных заболеваний и успела продемонстрировать возможность достижения длительных лечебных эффектов при минимальных нежелательных явлениях.

Моноклональные антитела стали первой формой таргетной терапии, используемой в настоящее время практически повсеместно. При этом иммунологический механизм действия составляет важную часть противоопухолевой активности.

Успехи внутриопухолевого введения целого ряда препаратов и, прежде всего, виротерапии, при которой удавалось индуцировать системный иммунный ответ на локальное воздействие, убедительно демонстрируют активность данной стратегии иммунотерапии.

Важным следствием такой универсальности является возможность распространения описываемых свойств иммунотерапии на различные заболевания, что позволяет лучше и более наглядно объяснить их.

Наглядное представление эффективности различных групп иммунотерапевтических препаратов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Эффективность различных групп иммунотерапевтических средств при злокачественных опухолях (оригинальная таблица)

Вид опухоли	Усиление презентации антигена	Модуляция активности иммунного синапса	Воздействие на кинетику иммунных процессов	Адоптивная терапия	Устранение ИСФ	Воздействие на опухоль для активации иммунного ответа
Меланома	++	++++	+++	++	++	++++
Рак почки	++	++++	+++	++	++++	++
Немелкоклеточный рак легкого	+++	++++	+++	+++	++++	++
Мелкоклеточный рак легкого	++	+++	-	+	-	НИ
Рак желудка	++	++	++	++++	++++	++
Рак пищевода	++	++	-	++	++	++
Колоректальный рак	+	++++	-	++++	++++	++
Саркомы мягких тканей	++	++	++	+	++	++
Рак яичников	++	++	++	+	++++	++
Рак предстательной железы	++++	++	-	НИ	++	+
Рак поджелудочной железы	++	-	-	++	++	++
Уротелиальный рак	++++	++++	-	+	++	++
Лимфома Ходжкина	НИ	++++	-	+	++	++
Неходжкинские лимфомы	++	++	++++	++++	++++	++
<i>Обозначения:</i>						
++++ – терапия включена в стандарты лечения;						
+++ – эффективность подтверждена исследованиями III фазы;						
++ – эффективность подтверждена исследованиями II фазы;						
+ – отдельные сообщения об эффективном применении данной группы методов;						
НИ – не изучался,						
- – отсутствие эффекта,						
ИСФ – иммуносупрессирующие факторы						

Несмотря на то, что у некоторых пациентов, как правило, с предрасположенным иммунным ответом на опухольассоциированные антигены удается получить крайне быстрый ответ на лекарственное лечение, в большинстве случаев процесс активации иммунной системы требует длительного времени – от нескольких недель до нескольких месяцев.

Кроме того, феномен иммунологической памяти поддерживает и ускоряет развитие сходных иммунных ответных реакций. Данное утверждение справедливо как в отношении противоинфекционного иммунитета, так и в отношении противоопухолевого иммунного ответа.

Гомеостатическая функция иммунной системы и различные механизмы, обеспечивающие ее как на клеточном, так и на молекулярном уровнях, приводят к многочисленным (комплексным) реакциям на одинаковые воздействия.

Такая работа требует сложных систем обратной связи и возможности оказывать прямо противоположные воздействия для сохранения определенного состояния внутренней среды организма. Целенаправленно воздействуя на отдельные звенья иммунной системы, мы, тем не менее, затрагиваем всю систему в разной степени. Таким образом, проявляется комплексность направленного действия иммунной системы.

Направление воздействия может быть и противоположным. Так попытки воздействия на опухоль с целью ее подавления могут привести у некоторых больных к росту и повышению злокачественности опухоли. С другой стороны, даже высокоизбирательное воздействие на опухоль может приводить к развитию иммуноопосредованных нежелательных явлений.

1.3. Иммуноопосредованные нежелательные явления (иоНЯ)

К сожалению, дуализм действия иммунотерапии приводит к ряду нежелательных последствий. Под иоНЯ понимается нежелательное явление, обусловленное избыточной активацией иммунной системы и не являющееся основной целью применения метода иммунотерапии. *Феномен гиперпрогрессирования* в подобном контексте обычно не рассматривается, однако полностью соответствует данному определению.

Собственно, иоНЯ иммуноонкологических препаратов могут затронуть практически любой орган и систему. Вместе с тем, наиболее частыми среди этих иоНЯ являются общие симптомы (лихорадка,

слабость, миалгии), поражение кожи (сыпи) и поражения кишечника (диарея, колит).

На сегодняшний день считается общепризнанным, что многие подобные иоНЯ не учитываются врачами и их частота, даже в контролируемых клинических исследованиях, существенно занижена.

Механизм развития действия иммунотерапии, клинические проявления отдельных иоНЯ весьма различны. Однако, благодаря универсальности иоНЯ весьма схожи при разных методах терапии.

Если применить классификацию иоНЯ, разработанных для противоопухолевых вакцин к иммуноонкологическим препаратам, можно выделить ряд схожих по механизму действия групп иоНЯ (табл. 2).

Таблица 2

Классификация иоНЯ по механизму действия
(оригинальная таблица)

Механизм	Примеры иоНЯ	Иммунная система
Классические аутоиммунные болезни (ассоциированные с ГКС II класса)	Аутоиммунный тиреоидит, аутоиммунный гепатит, миастения гравис, гемолитическая анемия	A
Молекулярная мимикрия	Ревматическая лихорадка, синдром Гиена-Баре	A
Болезни иммунных комплексов	Синдром Стивенса-Джонсона и синдром Лайелла, сывороточная болезнь	A
Гиперчувствительность немедленного типа (ассоциированная с IgE)	Анафилаксия, астма	AB
Гиперчувствительность немедленного типа (неассоциированная с IgE)	Анафилактоидные реакции, крапивница	AB
Промежуточные (ассоциированные с ГКС I класса)	Реактивный артрит, псориаз, болезнь Крона, язвенный колит	AB
Опосредованные преимущественно врожденной иммунной системой	Лихорадка, миалгия, артралгия, синдром выброса цитокинов	B
Обозначения: A – адаптивная иммунная система, B – врожденная иммунная система, ГКС – глюкокортикостероид, Ig – иммуноглобулин		

Общность механизмов развития иоНЯ позволяет разработать эффективные алгоритмы контроля над ними.

Обобщенные рекомендации по контролю за иоНЯ были разработаны группой экспертов под эгидой RUSSCO в 2017 г. Данные рекомендации базируются на ряде общих принципов, позволяющих управлять подобными нежелательными явлениями.

Первый принцип – это ступенчатая терапия. Начальная ступень выбирается исходя из тяжести развившегося иоНЯ, переход на более высокие ступени осуществляется при неэффективности проводимой терапии. Понижение терапии на более низкую ступень не осуществляется, отмена лечения происходит постепенно и медленно при условии значительного улучшения симптомов иоНЯ.

Данный принцип заимствован из алгоритмов лечения многих аутоиммунных болезней, где показал свою эффективность. Общность механизмов развития иоНЯ и аутоиммунных заболеваний дает основание для использования такого подхода.

Второй принцип – это применение иммуносупрессивных средств. За исключением симптоматической терапии при наименее тяжелых иоНЯ и тех, что обусловлены, в основном, врожденной иммунной системой, основу лечения таких побочных эффектов составляют глюкокортикостероиды.

При этом могут использоваться любые препараты в эквивалентных дозах. Лишь при неэффективности такого подхода прибегают к более сильным иммуносупрессивным средствам, представляющим собой ингибиторы ИЛ-6 и фактора некроза опухолей (например, инфликсимаб) или (что значительно реже) цитостатики, такие, как циклофосфамид или микофенолата мофетил.

Алгоритмы применения подобной терапии индивидуализированы для ряда наиболее частых иоНЯ.

Третьим принципом контроля за иоНЯ является их независимость от дозы иммунотерапевтического средства.

Так, лишь обусловленные выбросом цитокинов иоНЯ дозозависимы и могут контролироваться путем снижения дозировки вызвавшего их препарата. Короткая полужизнь данных регуляторных молекул и гомеостатические принципы функционирования иммунной системы позволяют успешно преодолевать эти иоНЯ при своевременном их лечении.

Активация клеточных механизмов при данных синдромах опасна развитием серьезных и плохо контролируемых осложнений, таких, как синдром повышенной проницаемости капилляров.

В остальных группах иоНЯ вызвавшее их иммунотерапевтическое средство может являться лишь триггером или фактором, смещающим равновесное состояние иммунной системы в патологическую сторону.

Поэтому при таких явлениях требуется более раннее и более интенсивное иммуносупрессивное воздействие, которое иногда само по себе вызывает осложнения, такие, как инфекции, стероидные язвы, нарушения электролитного обмена, эндокринопатии и др.

По этой причине, за исключением интерферона-альфа и блинатумаба, дозы иммунотерапевтических средств не редуцируются в зависимости от развития иоНЯ.

Терапия либо продолжается в прежних дозах, либо полностью отменяется (в случае выраженного иоНЯ или недостаточного контроля за иоНЯ).

Глава 2. Дендритные клетки и их роль в противоопухолевом иммунном ответе

ДК известны как «профессиональные» антигенпредставляющие клетки, которые могут захватывать, перерабатывать и представлять на клеточной мембране различные чужеродные белки, включая опухолевые антигены для активации Т- и В-лимфоцитов. Они играют важную роль в поддержании врожденных и приобретенных иммунных реакций, взаимодействуют с различными лимфоидными и миелоидными клетками в физиологических и патофизиологических условиях.

Впервые дендритные клетки были описаны Р. Langerhans в 1868 году, когда он выделил их из среды эпителиальных клеток кожи [20].

В 1973 г. R. Steinman и Z. A. Cohn обнаружили редкий тип клеток, обладающих способностью индуцировать выраженный иммунный ответ в селезенке мыши [32].

Однако изучение ДК началось только в 90-е годы XX века, когда они были получены из различных тканей экспериментальных животных и человека.

Установлено, что ДК можно выращивать (дифференцировать) в больших количествах в специальных лабораторных условиях, и их стали широко изучать на экспериментальных моделях. Были описаны ключевые молекулы, определяющие активацию и анергию, роль в созревании и активации Т-лимфоцитов, взаимодействие с НК-клетками (естественные киллерные клетки), В-лимфоцитами, участие в формировании иммунного ответа.

К наиболее важным достижениям этого периода относят разработку методов получения ДК из моноцитов периферической крови и костномозговых предшественников *in vitro*, что привело к значительному расширению возможности изучения ДК, и открыло эру клинического применения дендритноклеточных вакцин (ДК-вакцин).

Среди других достижений этого периода заслуживает внимание изучение различных типов ДК и их дифференцировка, установление роли ДК в регуляции клеточного и гуморального врожденного и адаптивного иммунного ответа, изучение ДК в патогенезе инфекционных, аутоиммунных и онкологических заболеваний.

2.1. Типы дендритных клеток

ДК редко встречаются среди лейкоцитов периферической крови (менее 1%) и обычно демонстрируют сложную фенотипическую и функциональную гетерогенность популяции. Субпопуляции ДК активно исследуются.

Описано несколько подтипов ДК с уникальными и специфическими функциями, морфологией и локализацией.

К ним относятся:

- 1) клетки Лангерганса;
- 2) миелоидные дендритные клетки;
- 3) дендритные клетки, полученные из моноцитов;
- 4) лимфоидные дендритные клетки;
- 5) плазмцитоподобные дендритные клетки.

Как правило, миелоидные ДК оказывают стимулирующее действие на иммунный ответ (противоопухолевое или противовоспалительное), в то время как лимфоидные и плазмцитоподобные подтипы связаны с его регуляцией или толерантностью.

Выделяют два основных типа ДК на основе путей их развития:

- 1) $CD11c^+CD123^{low}$ миелоидные ДК,
- 2) $CD11c^-CD123^{hi}$ плазмцитоподобные ДК.

Миелоидные дендритные клетки и макрофаги имеют общего костномозгового предшественника, экспрессирующего на своей поверхности маркер CD34 (молекула адгезии, взаимодействующая с L-селектином).

Более зрелые предшественники тканевых ДК, циркулирующие в крови, имеют морфологию моноцитов, но молекулы CD34 на их мембране отсутствуют.

Эти клетки несут на своей поверхности маркеры миелоидной дифференцировки CD11c (интегрин), CD13 (аминопептидаза), CD14 (рецептор для эндотоксин-связывающего протеина), CD33 (семейство иммуноглобулинов).

После выхода из кровотока в барьерные органы (кожа, печень, легкие) и слизистые оболочки они могут дифференцироваться в интерстициальные ДК и макрофаги (рис. 2).

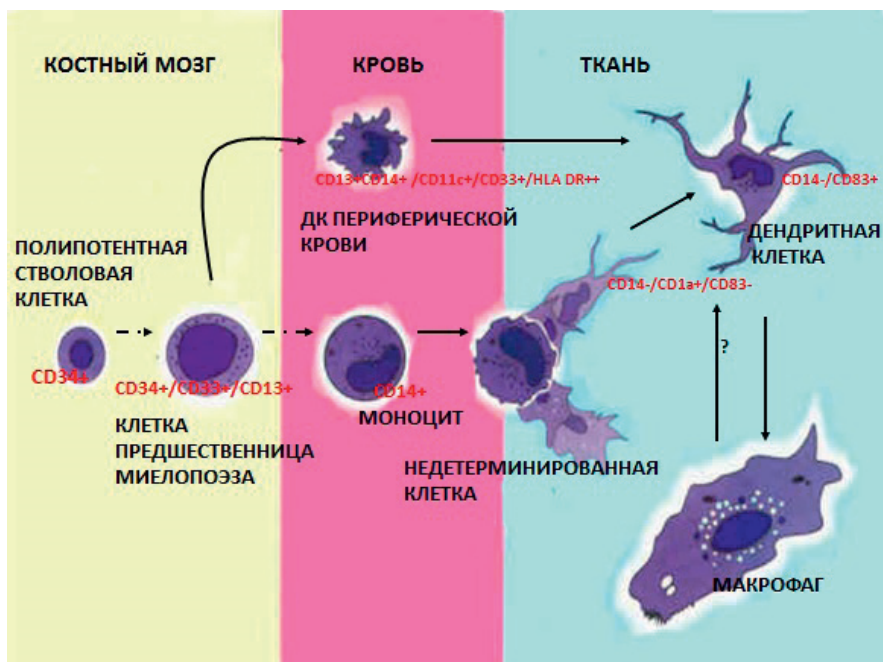


Рис. 2. Пути созревания дендритных клеток из миелоидных предшественников (оригинальный рисунок).

Циркулирующие ДК являются лейкоцитами и имеют костномозговое происхождение из общей гемопоэтической стволовой клетки [18].

Миелоидные ДК имеют миелоидное происхождение и типичную клеточную морфологию с многочисленными вуалеподобными цитоплазматическими выступами.

Плазмоцитоидные ДК имеют лимфоидное происхождение и по своей морфологии очень похожи на секреторные лимфоциты и плазматические клетки.

2.2. Плазмоцитоидные дендритные клетки

Плазмоцитоидные ДК морфологически сходны с В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Фенотипически эти клетки характеризуются отсутствием экспрессии миелоидных маркёров (CD13, CD33) и CD11c.

На своей клеточной поверхности они экспрессируют CD4, CD45RA, BDCA-2/CD303 и BDCA4/CD304, МНС II (МНС от англ. Major Histocompatibility Complex) молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса, костимуляторные молекулы (CD80, CD86, CD40) и большое количество рецепторов к интерлейкину 3 (IL-3R α /CD123) [35].

Только на поверхности зрелых ДК появляется маркёр созревания CD83. В отличие от миелоидных ДК, плазмоцитоидные ДК характеризуются низким уровнем экспрессии рецепторов к IgG Fc γ R2 (CD32) и практически неопределяемым уровнем экспрессии Fc γ R1 (CD64).

Из всех известных субпопуляций ДК только плазмоцитоидные ДК имеют Toll-like-рецепторы 7 и 9 типа [17].

Плазмоцитоидные ДК являются самыми активными продуцентами интерферонов I класса (IFN- α/β). Созревание плазмоцитоидных ДК происходит в присутствии IL-3, для взаимодействия с которым на мембране экспрессируется CD123 (α -цепь рецептора к IL-3).

2.3. Миелоидные дендритные клетки: иммунофенотип и функциональная активность

Миелоидные ДК происходят из костномозговых гемопоэтических клеток-предшественников, при этом их можно получить из моноцитов периферической крови в специальных лабораторных условиях.

Незрелые и полузрелые (фенотипически или функционально) они встречаются в нелимфоидных органах и тканях, однако для активации иммунного ответа они мигрируют в лимфатические узлы для взаимодействия с Т- и В-лимфоцитами.

Незрелые ДК содержат низкий уровень молекул главного комплекса гистосовместимости HLA I класса и костимулирующих молекул CD80 и CD86, и не в состоянии эффективно активировать Т-лимфоциты. Активация ДК с различными стимулами созревания связана с синтезом внутриклеточных и поверхностных молекул для

передачи их сигналов лимфоцитам, во многом зависит от микроокружения и может быть заблокирована или поляризована факторами, приводящими к образованию семейства ДК с толерантной и/или иммуносупрессорной (подавляющей) функцией.

ДК участвуют в созревании Т-лимфоцитов в тимусе и иммунных реакциях при разрушении опухолевых клеток. Становится общепринятым, что именно ДК определяют интенсивность противоопухолевых иммунных реакций и формирование опухолевого микроокружения, важная роль отводится цитокинам, которые они продуцируют (рис. 3).

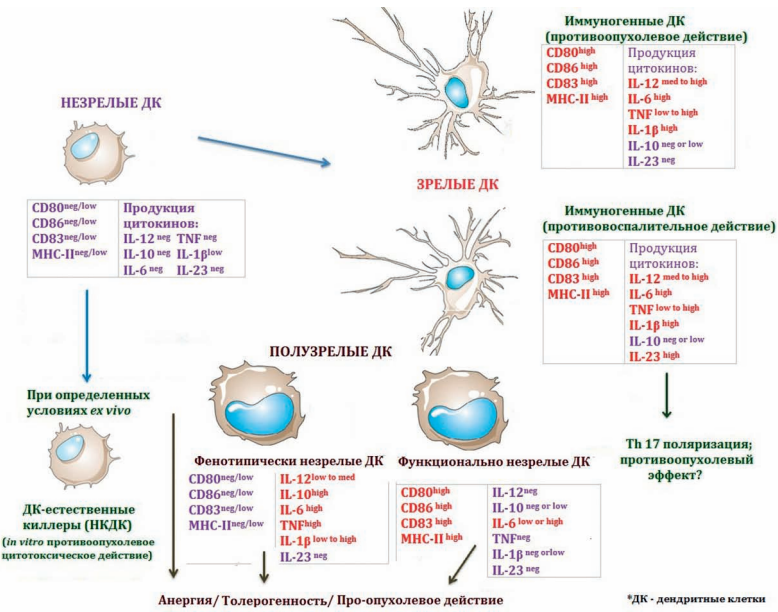


Рис. 3. Фенотипические и функциональные характеристики миелоидных костномозговых ДК (оригинальный рисунок).

Миелоидные ДК экспрессируют высокий уровень МНС II класса, костимуляторные молекулы (CD40, CD80, CD86) и адгезионные молекулы (CD11a, CD15s, CD18, CD29, CD44, CD49d, CD50, CD54), которые необходимы для образования иммунологического синапса и наиболее полной активации Т-лимфоцитов.

На ДК периферической крови не выявляются линейноспецифические антигены, но их распознают по высокой экспрессии МНС II

класса (HLA DR^{hi}) антигенов и отсутствию клональных маркёров, таких, как CD8, TCR (Т-клеточного рецептора) и Т-клеточного линейного маркёра CD90; В-клеточных антигенов CD10 и CD20; линейного маркёра CD56 для NK-клеток; моноцитарного антигена CD14; гранулоцитарной клеточной линии с экспрессией CD15 и CD35, гликофорина для эритроидной линии.

Циркулирующие ДК периферической крови могут быть или ДК-предшественниками, мигрирующими из костного мозга в периферические ткани, или созревающими ДК, нагруженными антигеном на пути в периферические лимфоидные органы.

2.4. Распознавание и презентация опухолеспецифических антигенов дендритными клетками

При распознавании чужеродных антигенов созревающие ДК мигрируют в лимфоидные органы, секретируют цитокины и инициируют иммунный ответ.

Миелоидные ДК обладают выраженной антигенпредставляющей функцией, играют решающую роль в активации врожденного и адаптивного иммунного ответа, стимулируют Т-, NK и В-клетки, но могут регулировать нарушения в активации иммунного ответа, способствовать развитию толерантности и, таким образом, предотвращать аутоиммунные заболевания.

Процесс распознавания чужеродных антигенов незрелыми ДК происходит на основе рецепторного аппарата (Toll-подобные рецепторы, С-лектины и др.). Присутствие С-лектиновых молекул CD206, CD205 и DC-SIGN CD209 обеспечивает эндоцитоз антигена с последующей презентацией на мембране ДК в составе молекул МНС.

С-лектины – это трансмембранные белковые молекулы, которые влияют на проявление функциональной активности ДК. Они выполняют распознающие функции, взаимодействуя со специфическими углеводсодержащими структурами антигенов, и играют ключевую роль в осуществлении межклеточных контактов.

Известно 2 основных пути «переработки» антигенов ДК для их презентации:

1. Экзогенный (или эндосомальный) – основанный на процессе эндоцитоза антигена и его деструкции до образования коротких пептидов в эндосомах (ранняя и поздняя лизосомы). Антигенные пепти-

ды взаимодействуют с HLA II класса и доставляются на поверхность клетки.

2. Второй (или протеасомальный путь) направлен на «переработку» собственных протеинов. Белки поступают в протеасомы, где расщепляются на пептиды.

Далее эндогенные пептиды доставляются в эндоплазматический ретикулум, где вступают в контакт с HLA I класса. Далее эти молекулы, нагруженные эндогенными пептидами, транспортируются в составе везикул к наружной мембране клетки. В ряде случаев антигены, поступившие эндосомальным путем, презентуются в составе HLA I класса. Механизм этого явления получил название – «кросс-презентация» (рис. 4).

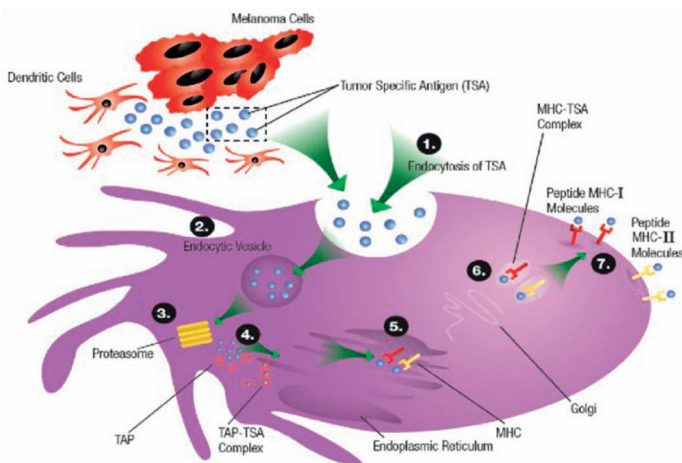


Рис. 4. Эндоцитоз, переработка и презентация опухолевых антигенов ДК (по Mahmoud F. et al., 2017): 1) эндоцитоз опухолеспецифического антигена (TSA); 2) образование эндоцитарного пузырька, транспортирующего TSA в цитозоль; 3) TSA расщепляются протеасомами, расщепляют белки на пептиды; 4) антигенные пептиды транспортируются в эндоплазматический ретикулум (ER); 5) в ER антигенные пептиды взаимодействуют с молекулами MHC I или MHC II класса, образуя комплексы, которые 6) проходят через аппарат Гольджи и доставляются на поверхность ДК, где они в последующем взаимодействуют с рецепторами Т-клеток.

Глава 3.

Рекомендации по работе в стерильных лабораторных помещениях

Умение вести клеточные культуры играет в современном мире важную роль, так как их применяют в различных областях медицины, биологии, биотехнологии и др.

Одним из главных условий при культивировании клеток является обеспечение стерильности на всех этапах работы, предотвращение возможной контаминации вирусами, бактериями, микоплазмами и грибами.

В настоящее время в европейских странах принят Стандарт GLP (Good Laboratory Practice) – система требований к организации, планированию и проведению доклинических исследований веществ (лекарственных средств), оформлению результатов и контролю качества указанных исследований.

Идентичный стандарт – ГОСТ Р-53434-2009 – был утвержден как национальный стандарт Российской Федерации с 1 марта 2010 г. Главной задачей принятого стандарта является обеспечение полного прослеживания хода проводимых исследований и полной их воспроизводимости. С 23 июля 2016 г. на территории Российской Федерации действует Федеральный закон № 180 «О биомедицинских клеточных продуктах», который регулирует отношения, возникающие в связи с разработкой, клиническими и доклиническими испытаниями, хранением, уничтожением, реализацией и транспортировкой, в том числе, ввозом и вывозом из страны любых биомедицинских клеточных продуктов.

В связи с этим в лаборатории по производству БМКП должна быть разработана система требований для стерильной работы с клеточными культурами человека.

3.1. Общие требования к помещениям

Согласно приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 08 августа 2018 г. № 512н «Об утверждении правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами», который утвержден в соответствии с частью 3 статьи 6 и частью 2 статьи 35 Федерального закона № 180 «О биомедицинских клеточных продуктах»:

1) доступ в помещения, в особенности в чистые помещения, должен быть строго ограничен сотрудниками и уполномоченным персоналом;

2) технологические и складские помещения, а также помещения контроля качества не должны использоваться для сквозного прохода персонала, не работающего в них;

3) освещение, температура, влажность и вентиляция должны соответствовать назначению помещения и не оказывать прямого или косвенного неблагоприятного воздействия на персонал и получаемые БМКП;

4) для обеспечения стерильности необходимо работать в зонах с избыточным давлением, в особых зонах в точках возможной локализации микроорганизмов необходимо создавать отрицательный перепад давления для предотвращения распространения контаминантов за пределы этих зон;

5) технологические помещения следует эффективно вентилировать, в них должны быть средства для контроля параметров воздуха (включая температуру и влажность).

В соответствии с ГОСТ ИСО 14644-1-2002 «Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды» и МУК 4.2.734-99 «Микробиологический мониторинг производственной среды» в стерильных помещениях качество воздуха должно соответствовать классу С (класс ИСО 7 в оснащенном состоянии).

По приказу Министерства промышленности и торговли Российской Федерации от 01 января 2001 г. № 916 «Об утверждении Правил организации производства и контроля качества лекарственных средств»:

1) в чистых помещениях все открытые поверхности должны быть гладкими и неповрежденными, чтобы свести к минимуму образование и накопление частиц или микроорганизмов, а также позволять многократно применять моющие и дезинфицирующие средства;

2) число шкафов, оборудования и полок должно быть сведено к минимуму;

3) двери должны быть без углублений в них для доступности их обработки, нежелательно использовать раздвижные дверные проемы;

4) подвесные потолки в помещениях, с целью предотвращения возможной контаминации, должны быть герметичными;

5) в зонах класса А и В запрещается установка любых раковин и сливов;

б) для сведения к минимуму рисков контаминации помещения для смены одежды должны содержать воздушные шлюзы, их необходимо использовать для обеспечения разделения разных этапов смены одежды (зона, следующая за комнатой для переодевания, должна иметь тот же класс чистоты);

7) подача отфильтрованного воздуха должна поддерживать положительный перепад давления относительно помещения с более низким классом чистоты воздуха при всех рабочих условиях, а воздушный поток должен эффективно обтекать зону;

8) смежные помещения с разными классами чистоты воздуха должны, как правило, иметь разницу в давлении в пределах от 5 Па до 20 Па, смежные помещения с одним классом чистоты воздуха должны иметь разницу в давлении не менее 5 Па, при этом необходимо, чтобы двери между смежными помещениями открывались без чрезмерных усилий.

Общие требования к оборудованию помещений регламентируются согласно приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 08 августа 2018 г. № 512н «Об утверждении правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами»:

1) оборудование должно быть установлено таким образом, чтобы не допускать возникновения какого-либо риска ошибок или контаминации;

2) эксплуатация и контроль оборудования должны быть описаны в соответствующей установленной внутренней документации; данные по эксплуатации, контролю, техническому обслуживанию, чистке, ремонту, калибровке, функциональному тестированию, поверке аттестации и другим видам деятельности с оборудованием должны документироваться и быть доступными для персонала и для аудита;

3) ламинарные боксы и боксы биологической безопасности 2-го класса, используемые в ходе технологического процесса, должны располагаться в помещениях с классом чистоты воздуха С (ИСО 7 в оснащённом состоянии) и выше (по ГОСТ ИСО 14644-1-2002 «Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды» и МУК 4.2.734-99 «Микробиологический мониторинг производственной среды»).

По приказу Министерства промышленности и торговли Российской Федерации от 01 января 2001 г. № 916 «Об утверждении Правил организации производства и контроля качества лекарственных средств»:

1) работы по ремонту и техническому обслуживанию оборудования не должны представлять никаких рисков для контаминации и качества продуктов;

2) технологическое обслуживание и ремонт оборудования необходимо проводить внутри чистой зоны;

3) стерилизация оборудования производится после его полной сборки;

4) при нарушении асептических условий во время ремонта или технологического обслуживания оборудования следует очистить зону, далее простерилизовать и (или) продезинфицировать.

Санитарно-гигиенические требования к помещениям регламентируются по ГОСТ ИСО 14644-1-2002 «Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды» и МУК 4.2.734-99 «Микробиологический мониторинг производственной среды»:

1) помещения, в особенности чистые помещения, необходимо тщательно очищать в соответствии с утвержденной процедурой, а в случае проведения дезинфекции должны применяться несколько типов дезинфицирующих средств;

2) следует вести графики проведения обработки, определить способы, оборудование и материалы, используемые при обработке помещений; данные по проведенной обработке помещений должны фиксироваться и быть доступными;

3) для каждого класса чистоты воздуха необходим отдельный уборочный инвентарь; для уборки потолков/стен и пола не должен использоваться один и тот же инвентарь; уборочный инвентарь и средства для уборки вспомогательных помещений должны быть отдельными; инвентарь и средства для уборки и очистки не должны быть источниками контаминации;

4) контейнеры/пакеты для мусора и отходов должны быть четко маркированы с описанием объема и класса опасности;

5) необходимо производить контроль температуры и влажности;

6) необходимо производить микробиологический контроль, включая контроль обработки помещений при помощи смывов с оборудования, рабочих поверхностей, материалов;

7) необходимо осуществлять контроль оборудования, применяемого для замера контролируемых показателей окружающей среды (периодическая поверка и/или калибровка измерительного оборудования).

3.2. Общие требования к персоналу

Лица, имеющие доступ в чистые помещения, должны (по ГОСТ Р 52249-2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств» от 01 января 2010 г. и по ГОСТ Р ИСО 14644-5-2005 «Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды. Часть 5. Эксплуатация»):

1) персонал должен соблюдать требования личной гигиены, а именно: весь персонал должен знать требования, касающиеся его деятельности, а также пройти первичное и последующее обучение в соответствии с его обязанностями, включая инструктаж по выполнению гигиенических требований;

2) персонал должен выполнять правила поведения в чистых помещениях, а именно:

- в помещениях запрещаются курение, прием пищи, питье, жевание, а также хранение пищевых продуктов, напитков, табачных изделий и личных вещей,

- не допускаются любые действия, нарушающие гигиенические требования в чистой зоне;

3) в чистых помещениях/рабочих зонах допускается нахождение только минимально необходимого количества персонала;

4) персонал не должен иметь противопоказаний к работе в чистых помещениях по состоянию здоровья;

5) персонал должен пройти курс обучения перед допуском к работе, а затем проходить повторно периодическое обучение, включающее вопросы гигиены и основы микробиологии, также при необходимости присутствия в чистом помещении посторонних лиц, не прошедших такого обучения, указанные лица должны пройти подробный инструктаж, и за ними должно быть установлено строгое наблюдение;

6) персонал должен четко соблюдать все инструкции и регламенты, а также правила поведения работы в чистой зоне;

7) персонал должен проходить периодическую диспансеризацию;

8) персонал не допускается к работе в стерильной зоне, если имеются открытые повреждения кожных покровов на открытых участках тела;

9) к работе в стерильной зоне не допускаются лица с инфекционными заболеваниями, дерматитом, солнечными ожогами, хроническим кашлем, также с острыми аллергическими реакциями;

10) одежда сотрудника должна соответствовать назначению помещения;

11) необходимо, чтобы персонал выполнял правила касательно пользования косметикой, ношения ювелирных украшений и др. предметов, способствующих контаминации продукции;

12) необходимо использовать ламинарные боксы, шкафы и изоляторы для защиты персонала от микроорганизмов, радиации и химических веществ (согласно ИСО 14644-4 и ИСО 14644-7).

Требования к одежде персонала регламентируются по ГОСТ Р 52538-2006 «Чистые помещения. Одежда технологическая. Общие требования» (табл. 3):

Таблица 3

Комплекты одежды по условиям применения
(по ГОСТ Р 52538-2006 от 1 января 2007 г.)

Элемент комплекта одежды	Класс чистоты помещения по ГОСТ ИСО 14644-1					
	3 ИСО	4 ИСО	5 ИСО	6 ИСО	7 ИСО	8 ИСО
Комбинезон	+	+	+	+	+	-
Шлем (с пелериной)	+	+	+	+	+	-
Шапочка-сетка	+	+	+	+	+	-
Бахилы (длинные)	+	+	+	+	+	-
Бахилы (короткие)	-	-	-	-	+	+
Обувь	+	+	+	+	+	+
Куртка с притачным капюшоном	-	-	-	+	+	+
Куртка с отдельным шлемом	-	-	-	+	+	+
Брюки	-	-	-	+	+	+
Халат из смесовой ткани	+	+	+	+	+	+
Шапочка из смесовой ткани	+	+	+	+	+	+
Маска для лица	+	+	+	+	+	-
Перчатки для переодевания	+	+	+	+	-	-
Перчатки технологические	+	+	+	+	+	-
Нижнее белье	+	+	+	+	+	-
Носки	+	+	+	+	+	-

* Применяется в зависимости от условий производства.

** Рекомендуется для применения при промежуточном переодевании (переходная одежда).

Примечание: знак «+» обозначает, что данный элемент комплекта одежды рекомендуется для применения; знак «-» – применение не рекомендуется.

К лицам, допущенным к работе в чистых помещениях, должны предъявляться следующие требования по использованию технологической одежды:

1) допускается надевать личное нижнее белье в чистых помещениях с ИСО 7 и 8, также в неклассифицируемых помещениях, с классами чистоты помещений выше 7 выдается одноразовое нижнее белье;

2) носки, надевающиеся под обувь для чистой зоны, должны быть из материалов с повышенной гигиеничностью и износостойкостью или аналогичных материалов для нижнего белья;

3) необходимо иметь отдельную пару обуви только для нахождения в чистых помещениях; это могут быть туфли из кожи и ее заменителей, на невысоком каблучке, устойчивые к обработке дезинфицирующими агентами с возможностью надевать их без помощи рук; обувь надевают на носки и по окончании работы хранят в специальных шкафах, оснащенных устройствами для ее обеззараживания;

4) одежда для чистых помещений должна быть из материалов и тканей с минимальным ворсоотделением, долговечная, прочная, не выделяющая загрязнений;

5) периодичность смены одежды для чистой зоны регламентируется по требованиям к чистоте продукции;

6) одежда для чистых помещений предназначена для защиты окружающей среды и продукта от загрязнений, выделяемых персоналом и его личной одеждой;

7) одежда многократного применения должна стираться (или обрабатываться другими методами очистки согласно регламенту) и храниться так, чтобы минимизировать риск ее загрязнения;

8) выносить использованную или упакованную одежду для чистых помещений за пределы чистой зоны нельзя, исключениями являются ее замена или обработка;

9) надевать одежду для чистых помещений следует таким образом, чтобы свести к минимуму риск загрязнения, как правило, принимают схему переодевания от головы до ног, одежда надевается непосредственно перед входом в чистую зону;

10) в помещениях с классами ИСО 6-8 маски и маски для бороды, очки и технологические перчатки применяют лишь при необходимости;

11) перчатки необходимо надевать так, чтобы верхний край манжетов рукавов одежды не открывался;

12) для одноразовой одежды и принадлежностей, предназначенных для применения в производстве стерильной продукции (стерильная одежда из ламинированного нетканого полотна или др.), на листе-вкладыше должна быть отметка с указанием вида стерилизации и срока сохранения стерильности.

Требования к кратности использования одежды персонала регламентируются по ГОСТ Р 52538-2006 «Чистые помещения. Одежда технологическая. Общие требования» от 1 января 2007 г. (табл. 4):

Таблица 4

Рекомендуемая периодичность смены одежды
(по ГОСТ Р 52538-2006 от 1 января 2007 г.)

Класс чистоты помещения по ГОСТ ИСО 14644-1	Периодичность смены одежды
3 ИСО	при каждом входе при каждом входе при каждом входе или один раз в смену один раз в смену ежедневно или через день 1-3 раза в неделю
4 ИСО	
5 ИСО	
6 ИСО	
7 ИСО	
8 ИСО	

Согласно ГОСТ Р 52538-2006 технологическая одежда может быть разделена на одноразовую и многоразовую:

1) к одноразовым принадлежностям относят маски, шапочки-сетки, перчатки и бахилы, т.к. такие предметы уступают многоразовой одежде по прочности и долговечности, а также по пылевороотделению;

2) к многоразовой одежде относят тканые костюмы, применяющиеся для носки в чистой зоне, которые могут быть обработаны и заменены в соответствии с инструкциями.

Типовой порядок переодевания персонала при входе в чистую зону (возможно применение других вариантов):

1) удалить грязь с обуви с помощью коврика или специального покрытия пола;

2) снять ювелирные украшения, наручные часы, личную одежду;

3) удалить косметику, воспользоваться кремом для лица (при необходимости);

4) вымыть руки и увлажнить кожу кремом (при необходимости);

- 5) надеть специальную одежду для чистой зоны;
- 6) надеть маску и головной убор;
- 7) надеть защитный комбинезон или костюм;
- 8) надеть носки или бахилы, надеть обувь для чистой зоны;
- 9) убедиться, что все средства защиты надеты правильно;
- 10) надеть перчатки;
- 11) войти в чистое помещение.

Глава 4.

Технология приготовления дендритноклеточной вакцины (ДК-вакцины)

Работу с ДК человека проводят в условиях стерильного модуля с жестким режимом, использованием потолочных воздушных фильтров HEPA/ULPA (ультравысокая очистка), обладающих эффективностью 99,9995% по частицам размером 0,12 мкм.

Поддача отфильтрованного воздуха должна поддерживать положительный перепад давления относительно помещения с более низким классом чистоты воздуха при всех рабочих условиях.

Смежные помещения с разными классами чистоты воздуха должны, как правило, иметь разницу в давлении в пределах от 5 Па до 20 Па.

Ламинарные боксы и боксы биологической безопасности 2-го класса, используемые в ходе технологического процесса, должны располагаться в помещениях с классом чистоты воздуха С (ИСО 7 в оснащённом состоянии) и выше (по ГОСТ ИСО 14644-1-2002 «Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды» и МУК 4.2.734-99 «Микробиологический мониторинг производственной среды»).

Допускается установка ламинарных боксов и боксов биологической безопасности 2-го класса в помещениях с классом чистоты воздуха D (ИСО 8 в оснащённом состоянии) при финальной стерилизации соответствующего промежуточного или готового продуктов с соблюдением требований к одежде персонала для класса чистоты воздуха С.

4.1. Материально-техническое обеспечение

4.1.1. Оборудование

Согласно пункту 4.3.1. Правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами – оборудование, способное повлиять на качество готового БМКП, а также привести к ложным и неточным результатам анализа продуктов производства БМКП и их компонентов, должно подвергаться квалификации и верификации.

Оборудование, рекомендуемое для производства БМКП, представлено ниже:

1. Система для криоконсервации клеток крови, компонентов крови и биологических материалов «Ice-Cube 14S» – полнофункциональная система для криоконсервации, предназначенная для обеспечения планомерного и точного охлаждения различных биологических объектов до низких и сверхнизких температур, «SY-Lab Gerate GmbH» (Австрия).

2. Система «Криобанк» – криохранилище для хранения биологического материала в «сухой» фазе жидкого азота в оптимальной комплектации, «CRYO DIFFUSION S.A.S.» (Франция).

3. «Бокс абактериальной воздушной среды для работы с патогенными агентами, 1140 мм, БАВнп-01-«Ламинар-С» – 1,2 «ISOLATOR» (артикул 1R-H.004-12.0). Изолятор положительного (повышенного) давления. Ламинарные системы (Россия).

4. Стационарные и переносные бункеры для хранения криоконсервированного биоматериала в жидком азоте (-196°C).

5. Инкубатор медицинский «Heracel» для культивирования клеток в атмосфере 5% CO₂, «Termo Electron LTD GmbH» (Германия).

6. Ламинарный шкаф ПА (70% рециркуляция) с вертикальным потоком воздуха SafeFAST Elite с частичной вытяжкой и защитным барьером для защиты как рабочего материала, так и оператора, и окружающей среды от опасности микробной контаминации, соответствующие классу II биологической опасности, «Faster» (Германия).

7. Оборудование для хранения крови и её компонентов, вакцин – морозильные камеры -35°C и -80°C, «Sanyo Elektrik Co» (Япония).

8. Центрифуга лабораторная рефрижераторная «Labofuge 400R» для центрифугирования суспензии мононуклеарных клеток (МНК) и дендритных клеток (ДК), «Thermo Electron LED GmbH» (Германия).

9. Центрифуга лабораторная CM-6M Elmi с дополнительным ротором, «ELMI Ltd» (Латвия).

10. Морозильник медицинский низкотемпературный Forma 803CV, горизонтальный 84,9 л, от -50°C до -86°C, «Thermo Scientific» (Швейцария).

11. Холодильник фармацевтический ХФ-400 «Позис» для хранения питательных сред и растворов при t = 40-60°C, ФГУП «ПО-ЗиС» (Россия).

12. Медимашина «Дако» для дезагрегации ткани до изолированных клеток, с разовыми стерильными наборами ножей и клеточных фильтров (медиконы, филконы), производство Дания.

13. Механические и электронные, одноканальные и многоканальные дозаторы mLINE, объемом 1-10 μ l, 2-20 μ l, 10-100 μ l, 100-1000 μ l, 500-5000 μ l с возможностью установки защитных фильтров в посадочный конус и полного автоклавирования без разбора дозатора, «Biohit» (Финляндия).

14. Микроскоп «Primo Vert» со встроенной камерой и монитором, производства компании Pulch + Lorenz Medizintechnik (Германия).

15. Микроскоп для лабораторных исследований универсальный с проходящим и отраженным светом «Axio Imager M1», набором опций для наблюдения и записи изображений объектов в различных режимах контраста, с модулем для флуоресцентного анализа, «Carl Zeiss» (Германия).

16. Проточный цитофлуориметр BD FACSCanto II для клинических лабораторных исследований, биологических и медицинских научных исследований (США).

17. Автоматизированная система ELISpot компании «Carl Zeiss» с микроскопом AxioImager, цифровой камерой высокого разрешения и специализированным программным обеспечением, используемая для исследования специфических иммунных реакций при инфекционных, аутоиммунных, аллергических и онкологических заболеваниях (Германия).

18. ИФА-ридер «Multiskan EX Thermo» (США) с термошейкером.

19. Автоматический счетчик клеток Countess™, определяющий количество живых и мертвых клеток, а также общее количество клеток, с использованием трипанового синего. Производитель «Invitrogen» (США).

4.1.2. Реагенты, расходные материалы

Для производства БМКП возможно использовать следующие реагенты и расходные материалы:

1) сбалансированная бессывороточная среда «CellGro DC» (CellGenix, Германия) для дифференцировки миелоидных предшественников в ДК в условиях GLP (произведена в условиях GMP);

2) культуральная среда RPMI-1640 (Биолот, Россия);

3) полная питательная среда DMEM-F12 (Биолот, Россия) с добавлением 20% телячьей эмбриональной сыворотки, глутамина, пенициллина, стрептомицина, трансферрина (5 мкг/мл), инсулина (5 мкг/мл), селена (5 нг/мл);

- 4) трипсина раствор 0,25% (Биолот, Россия);
- 5) версена раствор 0,02%, стерильный (Биолот, Россия);
- 6) градиент плотности «Ficoll-Paque Premium» (GE Healthcare, Великобритания);
- 7) официальная сыворотка АВ человека IV группы (Sigma, США);
- 8) телячья эмбриональная сыворотка, тестируемая на отсутствие микоплазм и вирусов (Биолот, Россия);
- 9) бессывороточная криосреда (Биолот, Россия) для работы в условиях GLP;
- 10) антибиотики, L-глутамин для клеточных культур (Sigma, США);
- 11) суплемент жидкий для культуральной среды SITE+3 (Sigma, США);
- 12) суплемент жидкий для культуральной среды ITS (Sigma, США);
- 13) диметилсульфоксид (ДМСО) (Sigma, США);
- 14) трипановый синий (Sigma, США);
- 15) ростовые факторы и факторы дифференцировки GM-CSF (CellGenix, Германия), GM-CSF (Неостим, Китай), IL-4 (CellGenix, Германия), TNF- α (BD, США);
- 16) набор моноклональных антител, конъюгированных с флуорохромами к поверхностным антигенам гемопоэтических клеток человека CD11c, HLA DR, CD14, CD19, CD3, CD4, CD8, CD33, CD34, CD16, CD56, CD45; дендритных клеток CD83, CD1a, CD80, CD86, CD14, CCR7, CD209, HLA-DR (BD Biosciences, США); опухолевых клеток NY-ESO-1, MAGE, BAGE, GAGE (Santa Cruz Biotechnology, США) для иммунофенотипирования методом проточной цитометрии, «BD Biosciences» (США);
- 17) моноклональные антитела к линейным антигенам миелоидных клеток, моноцитов, Т- и В-лимфоцитов, NK-клеток, незрелых, зрелых и активированных ДК (CD11c, CD14, CD3, CD19, CD20, CD16, CD56, HLA DR, CD1a, CD83, CD80); моноклональные антитела к опухолевым антигенам S100, tyrosinase, MITF, MAGE1, NY-ESO-1, MART/MelanA, CD63 (DAKO, Дания; Novocastra, Великобритания) для иммунофенотипирования непрямым иммуноцитохимическим методом с использованием систем визуализации «In vision» и «Novostain detection kit NCL-RTU-D» (DAKO, Дания; Novocastra, Великобритания);

18) стерильная разовая лабораторная посуда: культуральные флаконы для клеточных культур на 25 см², 75 см², 175 см² активированная поверхность культивирования, вентилируемая крышка с гидрофобной фильтрующей мембраной 0,2 мкм (Sarstedt, Германия); вакутейнеры наполнитель EDTA «Vacutest Kima srl» (Италия); криопробирки на 1,5 мл, 4,5 мл Nunc «CryoTube» (Thermo Fisher Scientific, США) и центрифужные пробирки 15 мл, 50 мл (Sarstedt, Германия); серологические пипетки на 2 мл, 5 мл, 10 мл, 25 мл (Sarstedt, Германия); наконечники на 100 мкл, 300 мкл, 1000 и 5000 мкл (Biohit, Финляндия).

4.2. Описание медицинской технологии

4.2.1. Забор периферической крови

Забор периферической венозной крови, объемом 100 мл осуществляют стерильно в вакутейнеры, содержащие ЭДТА («Vacutest Kima srl», Италия).

4.2.2. Дифференцировка ДК

Процесс дифференцировки дендритных клеток происходит следующим образом:

1. Периферическую венозную кровь помещают в стерильные 50-мл пробирки («Sarstedt», Германия) и разбавляют равным объемом питательной среды RPMI-1640 («Биолот», Россия).

2. 10 мл разбавленной клеточной суспензии наслаивают на 3 мл градиента плотности «Ficoll-Paque Premium» «GE Healthcare» (Великобритания) в 15-мл стерильных центрифужных пробирках («Sarstedt», Германия).

3. Центрифугируют в лабораторной центрифуге «Labofuge 400R» («Thermo Electron LED GmbH», Германия) при 1500 об/мин в течение 40 мин при комнатной температуре. Во время центрифугирования эритроциты и гранулоциты оседают на дно пробирки, а на границе раздела фаз находятся мононуклеарные клетки (МНК).

4. Прозрачный слой среды, расположенный непосредственно над опалесцирующим слоем МНК, удаляют, МНК собирают по

всей площади сечения пробирки. При этом достигается примерно 1000-кратная очистка МНК от других клеток.

5. Взвесь МНК вносят в стерильные 15-мл центрифужные пробирки и разбавляют не менее чем четырехкратным избытком неполной питательной среды RPMI-1640, тщательно ресуспендируют.

6. Отмывают МНК в неполной питательной среде RPMI-1640 двукратным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 10 мин.

7. Подсчет и оценку жизнеспособности МНК проводят с помощью автоматического счетчика клеток «Countess™» («Invitrogen», США) и трипанового синего, получают $10-15 \times 10^6$ и более клеток, жизнеспособность – не менее 98%.

8. Далее МНК помещают в неполную питательную среду RPMI-1640 (посевная доза 5×10^6 кл/мл) и 2 плоскостонных культуральных флакона 75 см² с вентилируемыми пробками («Sarstedt», Германия) для выделения адгезивной фракции МНК.

9. Инкубируют в условиях контролируемого 5% CO₂ и 98% влажности при 37°C (CO₂-инкубатор «Heracel» «Termo Electron LTD GmbH», Германия) в течение 1,5-2 часов.

10. Неадгезивные клетки (лимфоциты), около 56%, удаляют, прикрепившиеся клетки (моноциты), около 44%, отмывают неполной питательной средой RPMI-1640.

11. Дифференцировку МНК в незрелые ДК проводят в сбалансированной бессывороточной среде «CellGro DC» («CellGenix», Германия), произведенной в условиях GMP и рекомендованной для культивирования ДК человека.

12. Ростовые факторы и факторы дифференцировки – GM-CSF (72 нг/мл) и IL-4 (20 нг/мл) вносят на 1-й, 3-й и 5-й дни культивирования.

13. На 7-е сутки культивирования для созревания ДК вносят ОАА, исходя из соотношения 1 ДК : 3 лизированные опухолевые клетки, ростовые факторы и факторы дифференцировки – GM-SCF и IL-4 и TNF-α («BD», США) (20 нг/мл). Инкубацию проводят в течение 48 час.

14. Через 48 час ДК собирают, осаждают центрифугированием, отмывают в 10 мл 0,9% раствора хлорида натрия, содержащего 10% альбумина человека, производят подсчет и оценку жизнеспособности с помощью автоматического счетчика клеток, типа «Countess» и трипанового синего. При соблюдении вышеуказанных условий получают $20-40 \times 10^6$ клеток с жизнеспособностью не

РУ ЛСР-007095/08
лейкопоза стимулятор
Код АТХ: L03AA03

Неостим

Молграмостим

рекомбинантный человеческий
гранулоцитарно-макрофагальный
колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ)
150 мкг (1.67 x 10⁶ МЕ)



ГМ-КСФ оказывает поливалентное
действие на ростки кроветворения

Лиофилизат для приготовления
раствора для внутривенного и
подкожного введения

- Неостим® показан пациентам, которым проводится миелосупрессивная терапия, с целью уменьшения выраженности нейтропении, что снижает риск развития инфекций и позволяет полноценно соблюдать режим химиотерапии
- ГМ-КСФ обладает поливалентным действием на различные ростки кроветворения: активирует зрелые миелоидные клетки, стимулирует пролиферацию и дифференцировку клеток-предшественников кроветворной системы, что приводит к образованию гранулоцитов, моноцитов/макрофагов и Т-лимфоцитов, не влияя на рост В-лимфоцитов

КОРРЕКЦИЯ НЕЙТРОПЕНИИ НА ФОНЕ ХИМИОТЕРАПИИ



ФАРМСИНТЕЗ

Информацию о Неостим®
можно получить в
ПАО «Фармсинтез»

8 (812) 329 8080
info@pharmsynthez.com
www.pharmsynthez.com

ИНФОРМАЦИЯ ПРЕДНАЗНАЧЕНА ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ



**Облегчая состояние пациента -
улучшает качество жизни!**



**ОКАЗЫВАЕТ
ВЫРАЖЕННОЕ
СИМПТОМАТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ***

**СНИЖЕНИЕ ИЛИ УСТРАНЕНИЕ
БОЛЕВОГО СИНДРОМА
вплоть до отказа от наркотиков***

**ВКЛЮЧЕН В КЛИНИЧЕСКИЕ
РЕКОМЕНДАЦИИ
ПО НУТРИТИВНОЙ ПОДДЕРЖКЕ
У ПАЛЛИАТИВНЫХ ПАЦИЕНТОВ**



*Подробная инструкция по медицинскому применению ЛП Сегидрин®
находится на сайте <http://grls.rosminzdrav.ru/>
Р N003061/01 от 18.11.2008

SEHYDRIN.RU



ФАРМСИНТЕЗ

Производитель
ПАО «Фармсинтез»
Санкт-Петербург
+7(812) 329 8080



Официальный дистрибьютор на территории РФ
ООО «Профарм»
Москва
+7(495) 750 5437

ИНФОРМАЦИЯ ПРЕДНАЗНАЧЕНА ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ

менее 98% и иммунофенотипом зрелых ДК (CD1a⁻, CD14⁻, CD83⁺, CD80⁺, CD86⁺, HLA DR⁺). Это количество ДК используют для 2-х вакцинаций.

15. Для приготовления ДК-вакцины 1/2 часть клеток ($10-20 \times 10^6$) ресуспендируют в 1,5 мл 0,9% изотонического раствора NaCl, содержащего 10% альбумина человека, переносят в ампулу и доставляют в клиническое отделение для введения больному. Разовую дозу ДК ($10-20 \times 10^6$ клеток) вводят внутривенно в 4 точки, паравентрально. Другую 1/2 часть ДК криоконсервируют и хранят в жидком азоте до следующей вакцинации.

4.2.3. Криоконсервация ДК

Процедуру криоконсервации ДК выполняют по следующему алгоритму:

1. ДК помещают в криосреду – 90% аутологичной плазмы и 10% диметилсульфоксида (ДМСО) («Sigma», США) в индивидуально маркированные криопробирки («Sarstedt AG & Co», Германия).

2. Криоконсервируют с помощью программного криозамораживателя типа «Computer Freezer «Ice-Cube 14S» (Австрия) с контролируемой скоростью охлаждения, которая составляет -1°C/мин в диапазоне от +4°C до -4°C, и -5°C/мин в диапазоне от -40°C до -12°C.

3. Переносят в индивидуальные контейнеры с жидким азотом (-196°C) и хранят в криобанке до использования.

4.2.4. Размораживание ДК

Для размораживания и оценки жизнеспособности ДК:

1) криопробирку с ДК помещают на 3 мин в водяную баню +42°C, далее *ex tempore* переносят в стерильную 15-мл пробирку и разбавляют не менее чем десятикратным избытком 0,9% изотонического раствора NaCl, содержащего альбумин человека (конечная концентрация 2%);

2) отмывают ДК двукратным центрифугированием в 10 мл 0,9% изотонического раствора NaCl, содержащего альбумин человека (конечная концентрация 2%), при 1000 об/мин в течение 10 мин;

3) производят подсчет и оценку жизнеспособности с помощью автоматического счетчика клеток, типа «Countess» и трипанового синего, получают контрольное криоконсервированное количество ДК, жизнеспособность – не менее 98%.

Прижизненное исследование ДК проводят на всех этапах культивирования с помощью инвертированного микроскопа (рис. 5).

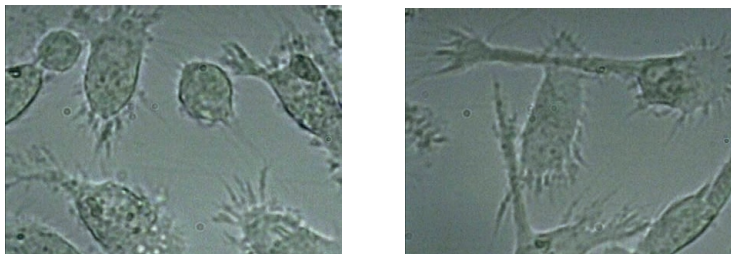


Рис. 5. Зрелые (вакцинные) дендритные клетки, полученные из моноцитов периферической крови, прижизненное изображение (инвертированный микроскоп, $\times 200$) (оригинальный рисунок).

Экспрессию наиболее значимых антигенов на зрелых ДК исследуют с помощью моноклональных антител и светового микроскопа или проточного цитофлуориметра BD FACSCanto II. При соблюдении вышеуказанных условий получают $10\text{-}20 \times 10^6$ клеток, с жизнеспособностью не менее 98% и иммунофенотипом зрелых ДК ($CD14^+$, $CD1a^{\text{low}}$, $CD83^{\text{high}}$, $HLA\text{-}DR^{\text{high}}$, $CD80^{\text{high}}$, $CD86^{\text{high}}$, $CCR7^{\text{high}}$). Это количество ДК используют для 2-х вакцинаций (рис. 6).

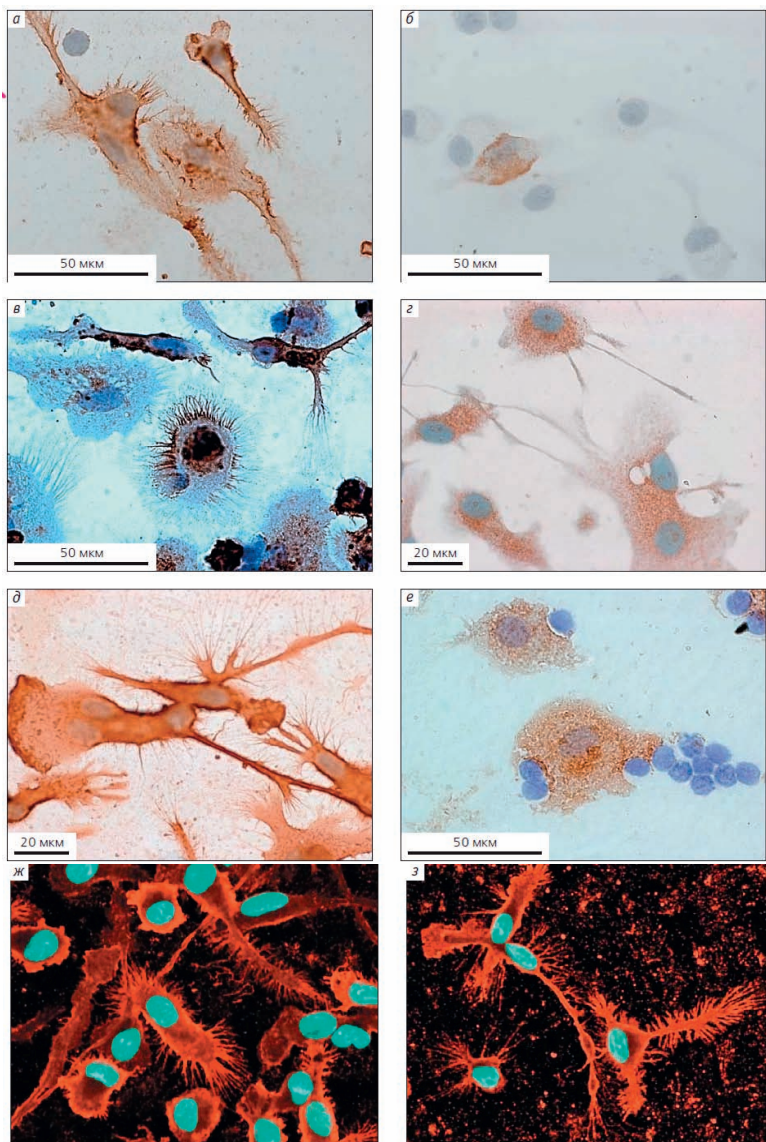


Рис. 6. Микрофотографии зрелых вакцинных ДК, нагруженных высокоиммуногенными опухолевыми антигенами (световой микроскоп Carl Zeiss, Германия (а-е, $\times 400$), клеточный анализатор Yoko-gama (ж, з; $\times 400$). Иммунофенотипы: а) CD1a; б, ж) CD11c; в) HLADR; г) CD83; е, з) CD86 (оригинальный рисунок).

4.2.5. Технология приготовления опухолевого лизата, содержащего раковотестикулярные антигены (РТА⁺)

ДК нагружают РТА⁺-содержащим опухолевым лизатом. Для нагрузки 10⁷ незрелых ДК используют лизат, полученный из 30⁷ клеток меланомы кожи клеточных линий РТА⁺ меланомы кожи (заявка на изобретение № 2019106338, приоритет от 05.03.2019 «Клеточный продукт для нагрузки и активации дендритных клеток человека»).

Для приготовления опухолевого лизата клетки меланомы кожи наращивают, смешивают в равных пропорциях и проводят:

- 1) 6 последовательных циклов моментального замораживания до -196°С и оттаивания до комнатной температуры в фосфатно-солевом буфере без криопротектора (качество лизиса клеток контролируют с помощью 0,1% трипанового синего и светового микроскопа);
- 2) осаждение клеточного детрита центрифугированием (10 мин, 3000 об./мин);
- 3) фильтрацию надосадочной фракции через миллипоровый фильтр (0,2 мкм);
- 4) расфасовку РТА⁺-опухолевого лизата в криопробирки и хранение при -20°С до использования.

Автоматизированная система клеточного имиджинга Lionheart™, Cytation™

BioTek
A part of **Agilent**



Получение и анализ изображений происходит в автоматическом режиме с моментальным формированием результатов.

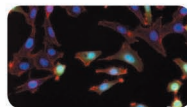
Компактные системы, включающие в себя полностью автоматизированный инвертированный микроскоп, инкубатор и камеру влажности.

Характеристики:

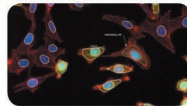
- увеличение до 100x
- до 6 объективов одновременно
- 4 канала флуоресценции (более 15 цветов)
- светлое поле (цветное и ч/б), фазовый контраст
- лазерный автофокус
- внесение реагентов для быстропотекающих процессов
- контроль содержания CO₂/O₂ и камера влажности
- программное обеспечение для получения и анализа данных Gen5™

Область применения:

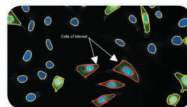
- исследование цитотоксичности
- исследование кальциевого ответа
- изучение пролиферации клеток, апоптоза
- исследование клеточных фенотипов
- изучение клеточной миграции и инвазии
- изучение дифференцировки стволовых клеток
- исследования трехмерных моделей и 3D сфероидов



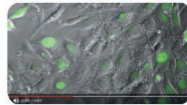
Захват изображения



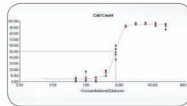
Обработка изображения



Создание примечаний



Запись видео



Анализ

Официальный дистрибьютер BioTek Instruments (США) в России — компания «БиоЛайн»



ООО «БиоЛайн»

Россия, 197046, Санкт-Петербург
Пинский пер., д. 3, Лит. А
тел.: +7 (812) 320 49 49
факс: +7 (812) 320 49 40
e-mail: main@bioline.ru
www.bioline.ru

Москва, тел.: +7 (800) 555 49 40
Новосибирск, тел.: +7 (383) 227 09 63
Екатеринбург, тел.: +7 (343) 287 32 49
Н. Новгород, тел.: +7 (831) 278 61 47
Ростов-на-Дону, тел.: +7 (863) 268 99 32
Казань, тел.: +7 (843) 570 66 88
Хабаровск, тел.: +7 (4212) 474 767

Единый бесплатный номер сервисной службы для всех регионов России: 8 800 333 00 49

ИНВЕРТИРОВАННЫЙ МИКРОСКОП

LEICA DMi1

- Одно фазовое кольцо в конденсоре для всех объективов (10x, 20x, 40x)
- Перестановка ручки управления столиком под правую/левую руку
- Подбор оптимального конденсора (конденсор S40 – для работы со стандартной лабораторной посудой или S80 – для высокой)
- FullHD цифровая камера с возможностью прямого вывода изображения на монитор



Авторизованный дистрибьютор Leica Microsystems (Германия) в России – компания «БиоЛайн»



ООО «БиоЛайн»
197046, Россия, Санкт-Петербург
Пинский пер., д.3, лит.А
тел.: (812) 320 49 49
факс: (812) 320 49 40
e-mail: main@bioline.ru
www.bioline.ru

Москва, тел.: +7 (800) 555 49 40
Новосибирск, тел.: +7 (383) 227 09 63
Екатеринбург, тел.: +7 (343) 287 32 49
Н. Новгород, тел.: +7 (831) 278 61 47
Ростов-на-Дону, тел.: +7 (863) 268 99 32
Казань, тел.: +7 (843) 570 66 88
Хабаровск, тел.: +7 (4212) 474 767

Единый бесплатный номер сервисной службы для всех регионов России: 8 800 333 00 49

Глава 5.

Рекомендации по клиническому применению иммунотерапии на основе аутологичных компонентов крови с иммунологическим адьювантом у пациентов с солидными опухолями

Согласно внутренним клиническим рекомендациям, разработанным мультидисциплинарной командой специалистов на базе научного отдела онкоиммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, применение иммунотерапии на основе аутологичных компонентов крови с иммунологическим адьювантом у пациентов с солидными опухолями возможно в следующих режимах:

- адьювантный;
- поддерживающий;
- режим при исчерпанных возможностях стандартного лечения.

Каждый из подходов применим у определенных категорий пациентов, которые должны получить специфическое лечение, объем которого варьируется в зависимости от режима и локализации, о чем будет сказано далее.

5.1. Применение адьювантного режима иммунотерапии у пациентов с солидными опухолями

Адьювантный режим применим у больных с меланомой кожи ПБ-IV стадии после полной циторедукции и пациентов с саркомами мягких тканей после хирургического лечения первого или последующих рецидивов заболевания (полная циторедукция).

5.2. Применение поддерживающего режима иммунотерапии у пациентов с солидными опухолями

При использовании поддерживающего режима описываемый метод терапии применим у следующих категорий больных, получивших стандартную терапию с достижением клинического эффекта:

- меланома кожи IV стадии – после достижения клинического эффекта на фоне как минимум 4 циклов стандартной терапии (или 4 мес. лечения);

- саркомы мягких тканей – после достижения клинического эффекта на фоне как минимум 4 циклов стандартной химиотерапии (или 4 мес. лечения).

5.3. Применение иммунотерапии у пациентов с солидными опухолями с исчерпанными возможностями системной терапии

У пациентов с исчерпанными возможностями системной терапии ключевым критерием для назначения иммунотерапии является отсутствие последующих эффективных зарегистрированных опций стандартной терапии.

При применении данного режима возможность применения иммунотерапии напрямую зависит от морфологического типа и локализации опухоли.

Меланома кожи

При меланоме кожи иммунотерапия назначается после проведения, как минимум, 1 линии системной терапии; при этом больные с мутацией в гене BRAF должны получать терапию ингибиторами BRAF или не иметь возможности/доступа к данному виду лечения по любым причинам; пациенты также должны получать ранее ингибиторы PD-1 или CTLA-4 или не иметь возможности/доступа к данным препаратам.

Колоректальный рак

При колоректальном раке иммунотерапия назначается после проведения, как минимум, 3 линий системной лекарственной терапии; пациенты без активирующих мутаций в генах KRAS, NRAS и BRAF должны получить, по крайней мере, 1 линию терапии с ингибиторами EGFR или не иметь возможности/доступа к данному виду лечения по любым причинам; также все больные должны ранее получать антиангиогенные препараты или не иметь возможности/доступа к данным препаратам по любым причинам.

Рак яичников

При раке яичников иммунотерапия назначается после проведения, как минимум, 3 линий лекарственного лечения и с признаками

резистентности к терапии препаратами платины; в предшествующем лечении в обязательном порядке должны использоваться таксаны; все больные должны ранее получать антиангиогенные препараты или не иметь возможности/доступа к данным препаратам по любым причинам.

Рак почки

При раке почки иммунотерапия назначается при неэффективности, как минимум, 2 линий системной терапии, включающей в обязательном порядке антиангиогенные препараты (при светлоклеточном варианте опухоли); пациенты также должны получать ранее ингибиторы PD-1 или не иметь возможности/доступа к данным препаратам; больные не должны получать ингибиторы mTOR в течение 3 мес. до начала терапии.

Рак молочной железы

При раке молочной железы иммунотерапия назначается:

- трижды негативный рак молочной железы – после, как минимум, 4 линий химиотерапии с включением препаратов платины, таксанов, антрациклинов и фторпиримидинов;
- люминальные HER2-негативные подтипы рака молочной железы – после, как минимум, 3 линий гормонотерапии (включающей антиэстрогены и ингибиторы ароматазы) и, как минимум, 3 линий химиотерапии с включением препаратов платины, таксанов и фторпиримидинов;
- HER2-позитивные подтипы рака молочной железы – после прогрессирования на фоне анти-HER2-терапии и, как минимум, 3 линий химиотерапии с включением препаратов платины, таксанов и фторпиримидинов.

Рак легкого

При раке легкого иммунотерапия назначается:

- плоскоклеточный рак легкого – после, как минимум, 2 линий терапии; пациенты должны получать ранее ингибиторы PD-1 или не иметь возможности/доступа к данным препаратам;
- неплоскоклеточный, немелкоклеточный рак легкого – после, как минимум, 2 линий терапии; пациенты должны получать ранее

ингибиторы PD-1 или не иметь возможности/доступа к данным препаратам; при наличии активирующих мутаций пациенты должны также получить, как минимум, 1 линию терапии соответствующим ингибитором;

○ мелкоклеточный рак легкого – после, как минимум, 2 линий системной терапии.

Герминогенные опухоли

При герминогенных опухолях иммунотерапия назначается после прогрессирования на, как минимум, 2 линиях терапии (обязательно проведение химиотерапии по схеме ВЕР и ТИР в адекватных режимах в анамнезе), у не являющихся кандидатами для проведения высокодозной терапии с трансплантацией СКПК.

Опухоли невыясненной первичной локализации

При опухолях невыясненной первичной локализации иммунотерапия назначается после, как минимум, 1 линии терапии с включением препаратов платины или таксанов.

Уротелиальный рак

При уротелиальном раке иммунотерапия назначается после, как минимум, 1 линии терапии с включением препаратов платины.

Саркома мягких тканей

При саркоме мягких тканей иммунотерапия назначается после, как минимум, 1 линии системной терапии с включением антрациклинов.

Остеогенная саркома

При остеогенной саркоме иммунотерапия назначается при неэффективности, как минимум, 2 линий системной терапии.

Рак предстательной железы гормонорезистентный

При раке предстательной железы гормонорезистентном иммунотерапия назначается после 1 линии химиотерапии.

Опухоли репродуктивной системы

При опухолях репродуктивной системы иммунотерапия назначается при исчерпанных возможностях стандартной терапии.

Рак желудка

При раке желудка иммунотерапия назначается после 2 линий системного лечения, включающего препараты платины и (при наличии экспрессии HER2) на фоне анти-HER2-терапии (при возможности ее обеспечения).

Рак поджелудочной железы

При раке поджелудочной железы иммунотерапия назначается после, как минимум, 1 линии системной терапии.

Плоскоклеточный рак головы и шеи

При плоскоклеточном раке головы и шеи иммунотерапия назначается после, как минимум, 1 линии системной терапии, включавшей препараты платины.

Прочие виды солидных опухолей

При прочих видах солидных опухолей иммунотерапия назначается в индивидуальном порядке по решению консилиума специалистов с обязательным участием представителей научных отделов онкоиммунологии и терапевтической онкологии.

5.4. Условия и критерии иммунотерапии у пациентов с солидными опухолями

Проведение иммунотерапии на основе аутологичных компонентов крови с иммунологическим адьювантом у пациентов с солидными опухолями возможно при соблюдении следующих условий и критериев:

1. Предоставление письменного информированного согласия.
2. Возраст старше 18 лет.
3. Гистологически подтвержденный диагноз злокачественной опухоли.

4. Наличие материала для оценки генетических маркёров
5. Объективно оцениваемые опухолевые очаги.
6. Функциональный статус 0-1 балл по шкале ECOG.
7. Ожидаемая продолжительность жизни не менее 12 недель.
8. Прогрессирование после стандартной терапии заболевания.
9. Срок после предшествующего лечения не менее 4-х недель.
10. Восстановление после осложнений предыдущего лечения (допускается наличие нежелательных явлений 1 ст.).
11. Отсутствие прогрессирующих метастазов в головном мозге. Пациенты с облученными или удаленными очагами, а также с бессимптомными очагами, не требующими применения глюкокортикоидов и стабильными в течение, как минимум, 1 мес., допускаются.
12. Лабораторные показатели:
 - отсутствие признаков токсичности 2 и более степени (в том числе, лимфопении);
 - допускается повышение трансаминаз 2 ст. при поражении печени, повышение щелочной фосфатазы 3 ст. при поражении костей, снижение гемоглобина 2 ст.; для повышения уровня гемоглобина допустимы гемотрансфузии.

5.5. Противопоказания для назначения иммунотерапии у пациентов с солидными опухолями

Противопоказаниями для назначения описываемого метода лечения являются:

1. Беременность или кормление грудью.
2. Декомпенсация сопутствующих хронических заболеваний.
3. Высокая вероятность необходимости применения глюкокортикоидов во время лечения для терапии сопутствующего заболевания.
4. Наличие острого инфекционного процесса.
5. Агрессивное течение опухоли:
 - прогрессирование на предшествующем лечении менее чем за 2 мес.;
 - длительность анамнеза метастатического процесса менее 6 мес.;
 - 2 и более неблагоприятных прогностических фактора, специфичных для соответствующей опухоли.

6. Аутоиммунные заболевания (кроме витилиго и аутоиммунного гипотиреоза, контролируемого на фоне заместительной гормональной терапии).

7. Психические расстройства или неспособность больного следовать процедурам лечения и предоставить информированное согласие.

8. Одновременное включение в другое клиническое исследование с другим исследуемым препаратом.

9. Сопутствующая противоопухолевая терапия, не описанная в данной рекомендации.

5.6. Схемы лечения при различных режимах иммунотерапии

Базовую схему лечения можно представить в следующем варианте: иммунотерапия на основе аутологичных компонентов крови с иммунологическим адъювантом будет осуществляться 1 раз в 2 недели (первые два введения), затем 1 раз в 21 день (2 введения), затем каждые 28 дней – до 1 года, далее 1 раз в 3 мес. в течение второго года лечения, 1 раз в 6 месяцев – в течение 3-го года последующих лет лечения.

При использовании режима при исчерпанных возможностях решение об увеличении интервала между циклами иммунотерапии принимается индивидуально; лечение проводится до прогрессирования опухолевого процесса.

При выборе адъювантного или поддерживающего режимов после двух лет лечения, как правило, происходит переход на введения 1 раз в 6 месяцев в течение 3-го года при отсутствии признаков прогрессирования (далее пациенту рекомендуется динамическое наблюдение).

Перед проведением иммунотерапии на основе аутологичных компонентов крови с иммунологическим адъювантом обязательным является применение низких доз цитостатиков с иммуномодулирующей целью. Среди режимов можно выделить следующие:

1) введение 300 мг циклофосфида внутривенно (возможен внутримышечный путь введения) за 3 дня до применения иммунотерапии;

2) проведение метрономной терапии по схеме СМ (циклофосфамид 50 мг внутрь ежедневно, метотрексат 2,5 мг внутрь 2 раза в день

2 последовательных дня в нед., применение иммунотерапии на 4 день от начала метотрексата);

3) проведение метрономной терапии этопозидом (50 мг внутрь ежедневно).

Кроме представленных цитостатиков в комбинации с иммунотерапией после проведения совместного обсуждения клинической ситуации с врачами химиотерапевтического профиля могут быть применены и другие химиотерапевтические агенты, таргетные или иммуноонкологические препараты.

Пациенты имеют право в любое время отозвать свое согласие и прекратить лечение без ущерба для дальнейшего лечения. Участие пациента в лечении может быть прекращено в любой момент по решению врача.

5.7. Условия прекращения иммунотерапии

Условиями (критериями) прекращения терапии являются:

- непереносимая токсичность терапии;
- рентгенологически или клинически подтвержденные данные, свидетельствующие о прогрессировании опухоли (прогрессирование определяется по системе IrRC и RECIST 1.1. При удовлетворительном состоянии пациента и отсутствии необходимости немедленной смены лечения допускается терапия после прогрессирования до следующей оценки эффекта. При подтверждении прогрессирования процесса больной завершает лечение);
- отказ больного от продолжения лечения;
- невыполнение пациентом процедур в соответствии с рекомендацией;
- развитие заболеваний или состояний, препятствующих продолжению лечения больного.

5.8. Оценка проводимой терапии и маркёров чувствительности к терапии

Оценка проводимой терапии

Оценка проводимой терапии будет проводиться по трем основным направлениям:

✓ Оценка безопасности: на протяжении всего лечения будет производиться оценка НЯ и иоНЯ, лабораторных показателей у

каждого пациента. Все токсические реакции будут оцениваться в соответствии со шкалой токсичности NCI-CTCAE v.5.

✓ Оценка клинической эффективности будет проводиться в соответствии с критериями irRC и RECIST.

✓ Оценка иммунологической эффективности будет проводиться следующими методами: гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) и «bystander effect», через 24 и 48 ч. (оценка реакции ГЗТ производится путем измерения наибольшего диаметра папулы в месте проведения иммунотерапии на основе аутологичных компонентов крови с иммунологическим адьювантом через 24 и 48 ч. от введения. Для документирования дополнительно производится фото очагов с миллиметровой линейкой); содержание субпопуляций лимфоцитов и моноцитов (оценка иммунного статуса по 9 параметрам).

Оценка маркёров чувствительности к терапии

До начала иммунотерапии на основе аутологичных компонентов крови с иммунологическим адьювантом у пациентов с солидными опухолями рекомендуется оценка следующих маркёров чувствительности к терапии:

Меланома кожи:

- мутации в генах BRAF, NRAS;
- MSI;
- экспрессия MGMT, b-Tubulin, Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста).

Колоректальный рак:

- мутации в генах BRAF, NRAS, KRAS;
- MSI;
- экспрессия TS, TP, DPD, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста).

Рак яичников:

- MSI;
- экспрессия b-Tubulin, Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста).

Рак почки:

- MSI;
- экспрессия PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста).

Рак молочной железы:

- MSI;
- экспрессия HER2, TS, TP, DPD, b-Tubulin, Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста).

Немелкоклеточный рак легкого:

- мутации в генах EGFR, BRAF, NRAS, KRAS, ROS-1, ALK;
- MSI;
- экспрессия TS, TP, DPD, b-Tubulin, Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста), после, как минимум, 2 линий терапии.

Мелкоклеточный рак легкого:

- MSI;
- экспрессия b-Tubulin, Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста), после, как минимум, 2 линий терапии.

Герминогенные опухоли:

- MSI;
- экспрессия b-Tubulin, Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста), после, как минимум, 2 линий терапии.

Опухоли невыясненной первичной локализации:

- мутации в генах EGFR, BRAF, NRAS, KRAS, ROS-1, ALK;
- MSI;
- экспрессия TS, TP, DPD, Top2A, b-Tubulin, Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста), после, как минимум, 2 линий терапии.

Уротелиальный рак:

- MSI;

- экспрессия Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста), после, как минимум, 2 линий терапии.

Саркома мягких тканей:

- мутации в генах BRAF, NRAS, KRAS;
- MSI;
- экспрессия b-Tubulin, Ercc-1, Top2A, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста), после, как минимум, 2 линий терапии.

Остеогенная саркома:

- MSI;
- экспрессия b-Tubulin, Ercc-1, Top2A, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста), после, как минимум, 2 линий терапии.

Рак предстательной железы гормонорезистентный:

- MSI;
- экспрессия b-Tubulin, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста), после, как минимум, 2 линий терапии.

Опухоли репродуктивной системы:

- MSI;
- экспрессия b-Tubulin, Ercc-1, Top2A, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста) после, как минимум, 2 линий терапии.

Рак желудка:

- MSI;
- экспрессия HER2, TS, TP, DPD, b-Tubulin, Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста).

Рак поджелудочной железы:

- MSI;
- экспрессия HER2, TS, TP, DPD, b-Tubulin, Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста).

Плоскоклеточный рак головы и шеи:

- MSI;
- экспрессия HER2, TS, TP, DPD, b-Tubulin, Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста).

Прочие виды солидных опухолей:

- MSI;
- экспрессия TS, TP, DPD, b-Tubulin, Ercc-1, BRCA-1, PD-1, NY-ESO, MAGE A3, другие РТА (при введении в практику соответствующего теста).

5.9. Сопутствующее лечение в период применения иммунотерапии

Сопутствующее лечение в период применения иммунотерапии на основе аутологических компонентов крови с иммунологическим адьювантом:

– недопустимо использование топических кортикостероидов и топических иммунодепрессантов (пимекролимус и его аналоги) в лечении местных кожных реакций I-II степени выраженности в месте введения иммунотерапии;

– глюкокортикоиды и другие иммуносупрессивные препараты, за исключением указанных в данной рекомендации цитостатиков, не должны применяться, за исключением случаев терапии иммуноопосредованных нежелательных явлений.

Глава 6. Проточная цитометрия

6.1. Общие принципы проточной цитометрии

Проточная цитометрия – современная технология быстрого измерения характеристик клеток при помощи моноклональных антител или других зондов, позволяющая судить об их типе (по наличию того или иного набора клеточных маркёров) и их функциональном состоянии (по изменению протекающих в них процессах).

Комплекс методов проточной цитометрии позволяет измерять физические и химические параметры отдельных клеток или частиц. Он основан на регистрации флуоресценции и светорассеяния от отдельных клеток или частиц, проходящих через лазерный луч в струе жидкости.

С помощью цитофлуориметрии можно исследовать лейкоциты периферической крови человека, диссоциированные клетки любых тканей, бактерии, дрожжевые клетки, микропланктон, одноклеточные водоросли, клетки животных и растений, а также другие частицы, такие, как изолированные ядра, хромосомы и т.п.

Метод проточной цитометрии обладает целым рядом преимуществ:

- короткое время анализа – современные цитофлуориметры могут регистрировать несколько параметров для каждой отдельной клетки со скоростью до 100000 событий в секунду;
- высокая производительность – исследуются выборки от нескольких тысяч до нескольких миллионов клеток, что гарантирует статистическую достоверность получаемых результатов;
- получение данных для каждой конкретной клетки;
- возможность выполнения сложных одновременных измерений нескольких параметров каждой индивидуальной клетки в суспензии;
- объективное измерение интенсивности флуоресценции за счет высокоэффективных и высокочувствительных фотоприемников;
- использование логических ограничений зон анализа для клеток (гейтов) допускает детектирование отдельных субпопуляций клеток, что особенно важно при характеристике гетерогенных клеточных популяций;

- способность обнаружить и охарактеризовать редкие события, т.е. встречающиеся с частотой 1 на 10000-100000 лейкоцитов [1].

В основе метода проточной цитофлуориметрии лежит принцип гидродинамического фокусирования. Суспензия клеток, предварительно окрашенных флуоресцентными красителями, под давлением подается в проточную ячейку.

За счет разности давлений между образцом и «обжимающей жидкостью» происходит гидродинамическое фокусирование струи в струе, в результате чего образуется два ламинарных потока жидкости и предотвращается их перемешивание. Диаметр внутренней струи сопоставим с диаметром клеток, и за счет этого клетки выстраиваются друг за другом.

В определенном месте клетки пересекают луч источника света, именно здесь происходит регистрация информации об их параметрах.

Иммуноцитофлуориметрический анализ клеток производится по нескольким параметрам:

- характеристики светорассеяния клеток:
FSC (forward side scatter) – показатель прямого светорассеяния и SSC (90°) (side scatter) – показатель бокового светорассеяния;
- интенсивность флуоресценции.

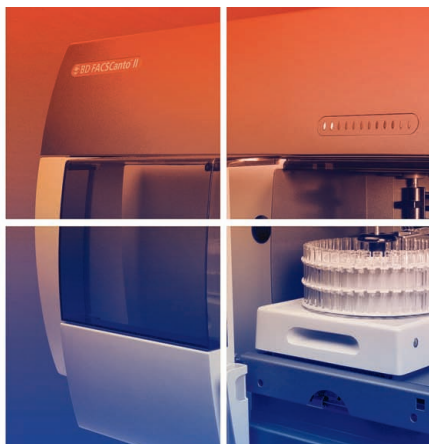
Детектор прямого (малоуглового) светорассеяния (FSC) располагается по ходу лазерного луча за проточной ячейкой и улавливает свет, углы рассеяния которого не превышают 9-12 градусов.

Прямое светорассеяние дает исследователю информацию о размере клетки. Регистрация бокового светорассеяния (SSC) позволяет судить о сложности внутреннего строения клетки (соотношение ядро/цитоплазма, наличие гранул, других внутриклеточных включений).

Луч лазера, проходя сквозь клетку, многократно преломляется и рассеивается во все стороны, часть излучения собирается под углом 90°, где расположен датчик бокового светорассеяния (SSC). Исследование параметров прямого (размер) и бокового (структура клеток) светорассеяния осуществляется без применения дополнительных реактивов и зависит от морфологических особенностей строения клеток.

Анализ информации, получаемой прибором по каналам светорассеяния, дает возможность разделить лейкоциты периферической крови на три популяции – лимфоциты, моноциты и гранулоциты.

Комплексный подход к изучению иммунной системы



Приборы для проточной цитометрии Becton Dickinson

- многопараметровый анализ
- полная автоматизация и стандартизация проведения анализа и подготовки проб
- автоматическая калибровка и настройка приборов
- контроль достоверности результатов



Одноцветные антитела и готовые панели реагентов

- иммунофенотипирование
- цитокиновый профиль
- дендритные клетки
- стволовые клетки
- циркулирующие опухолевые клетки
- циркулирующие эндотелиальные клетки
- пролиферативная активность



Многоцветные коктейли лиофилизированных антител BD™ Lyotubes

- любые индивидуальные панели для клинических и научных задач
- длительный срок хранения при RT
- оптимизированные концентрации антител в коктейле
- большой спектр флуорохромов

Официальный дистрибьютор Becton Dickinson /США/ в России – компания «БиоЛайн»



группа компаний

ООО «БиоЛайн», Россия,
197046, Санкт-Петербург
Пинский пер., д. 3, лит. А
тел.: +7 (812) 320 49 49
факс: +7 (812) 320 49 40
e-mail: main@bioline.ru
www.bioline.ru

Москва, тел.: +7 (800) 555 49 40
Новосибирск, тел.: +7 (383) 227 09 63
Екатеринбург, тел.: +7 (343) 287 32 49
Н. Новгород, тел.: +7 (831) 278 61 47
Ростов-на-Дону, тел.: +7 (863) 268 99 32
Казань, тел.: +7 (843) 570 66 88
Хабаровск, тел.: +7 (4212) 474 767



Системы для клеточного сортинга на основе многопараметровой цитометрии

Компактная автоматизированная система для рутинного клеточного сортинга **BD FACSMelody™**

- Высокий уровень автоматизации и простота использования.
- Современное решение для лабораторий любого профиля.

Интегрированная система для биобезопасного высокопроизводительного сортинга клеток **BD FACSAria™Fusion**

- Обеспечивает защиту оператора и материала в соответствии с Европейским стандартом 12469.

Получение чистой
субпопуляции клеток
заданного фенотипа
для последующего
культивирования,
клеточных и молекулярно-
генетических исследований.



Официальный дистрибьютор Becton Dickinson /США/ в России — компания «БиоЛайн»



ООО «БиоЛайн», Россия,
197046, Санкт-Петербург
Пинский пер., д. 3, лит. А
тел.: +7 (812) 320 49 49
факс: +7 (812) 320 49 40
e-mail: main@bioline.ru
www.bioline.ru

Москва, тел.: +7 (800) 555 49 40
Новосибирск, тел.: +7 (383) 227 09 63
Екатеринбург, тел.: +7 (343) 287 32 49
Н. Новгород, тел.: +7 (831) 278 61 47
Ростов-на-Дону, тел.: +7 (863) 268 99 32
Казань, тел.: +7 (843) 570 66 88
Хабаровск, тел.: +7 (4212) 474 767

Лимфоциты характеризуются наименьшими размерами, наиболее крупные – гранулоциты, моноциты занимают промежуточное положение по параметрам FSC.

Наиболее низкие характеристики SSC имеют лимфоциты, промежуточные – моноциты и высокие показатели SSC – у гранулоцитов (рис. 7).

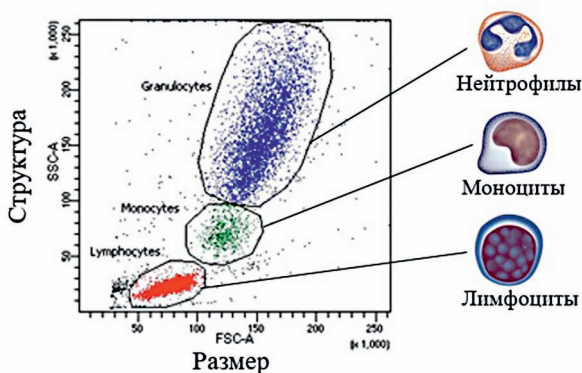


Рис. 7. Регистрация светорассеяния (оригинальный рисунок).

Однако основным параметром, который регистрируют проточные цитофлуориметры, является интенсивность флуоресценции изучаемого объекта.

Для регистрации флуоресценции прибором необходимо провести «окрашивание» клеток в образце моноклональными антителами, конъюгированными с флуорохромами.

При пересечении клеткой луча лазера в проточной ячейке молекулы флуоресцентных красителей, связанные с клеточными структурами, переходят в возбужденное состояние. Возвращаясь через короткое время в исходное состояние, молекулы испускают кванты света с иными длинами волн.

Это вторичное излучение, имеющее строго определенную для каждого флуорохрома длину волны, проходя через оптическую систему прибора, регистрируется высокочувствительными детекторами (фотоэлектронными умножителями).

Электронная система преобразует оптические сигналы в электрические и оцифровывает их для компьютерного анализа (рис. 8).

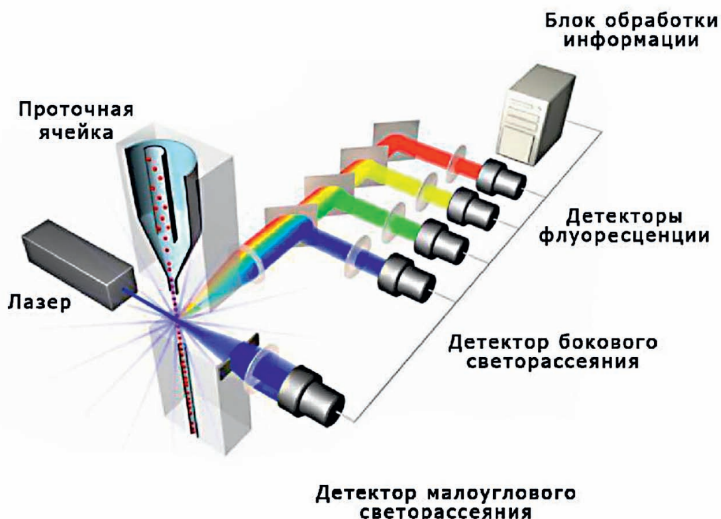


Рис. 8. Схема работы проточного цитометра (по Зурочка А. В. и др., 2018).

6.2. Оценка содержания субпопуляций лимфоцитов у онкологических больных с помощью проточной цитометрии

Проточная цитометрия широко применяется в иммунологии для иммунофенотипирования клеток периферической крови.

Имунофенотипирование – анализ гетерогенной популяции клеток с целью выявления наличия и соотношения субпопуляций путем анализа поверхностных и внутриклеточных антигенов (маркёров), экспрессируемых клетками.

Выявление и анализ антигенов производится с помощью конъюгированных с флуорохромами антител путем детекции флуоресцентного сигнала проточным цитофлуориметром.

Оценка субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток крови представляет собой значительную ценность для выявления различных патологических состояний иммунной системы, для контроля эффективности терапии, прогноза развития и течения заболевания.

В процессе дифференцировки на мембранах клеток системы иммунитета появляются макромолекулы – маркёры, соответствующие определенной стадии развития, морфологической дифференцировки клетки. Они получили название CD-антигенов.

С помощью поверхностных антигенных маркёров (дифференцировочных антигенов, CD) возможно определить направление развития, степень зрелости клеток, популяцию и субпопуляцию клеток, стадию их дифференцировки и активации (рис. 9).

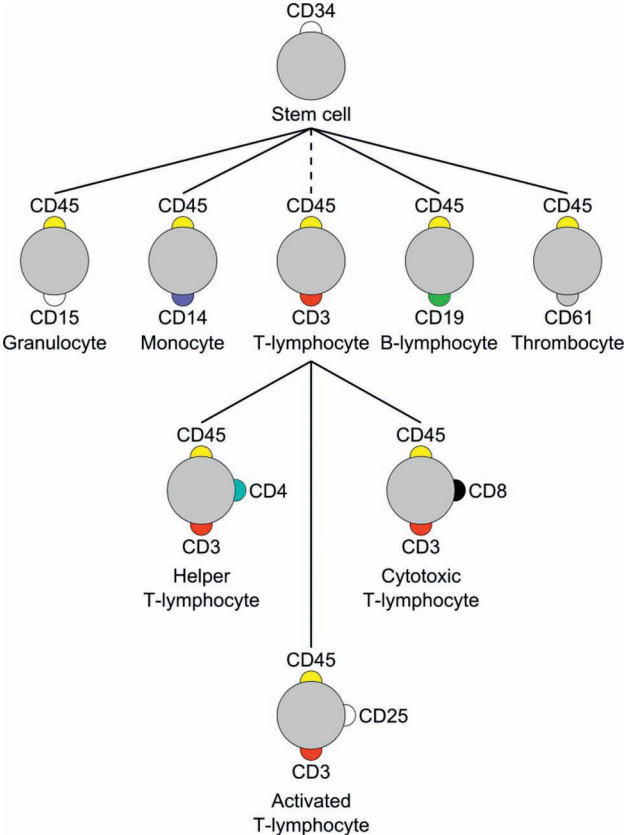


Рис. 9. Пример описания дифференцировки лейкоцитов по наличию различных CD на их поверхности (по wikipedia.org, 2019).

6.3. Анализ иммунофенотипических маркёров лимфоцитов и их основных субпопуляций

CD19 представляет собой мембранный гликопротеин, регулирует развитие В-лимфоцитов, активацию и их дифференцировку.

Эта молекула экспрессируется на всех нормальных В-клетках, включая про-В-лимфоциты, но исчезает у плазматических клеток в процессе их созревания. Данный антиген рекомендуется для количественной оценки общей популяции В-клеток [1].

CD3 рассматривается в качестве «линейного» маркёра, специфичного для всех клеток субпопуляции Т-лимфоцитов. Молекулы CD3 играют важнейшую роль в мембранной передаче сигнала, связанного с Т-клеточным рецептором.

CD4 является трансмембранным гликопротеином, связывается с молекулами МНС класса II, экспрессированными на антигенпрезентирующих клетках, облегчая распознавание пептидных антигенов. Служит маркёром Т-хелперов с фенотипом CD3⁺CD4⁺; представлен также на моноцитах, макрофагах, дендритных клетках. Поэтому для корректного выделения Т-хелперных клеток при проведении иммунофенотипирования необходимо оценивать коэкспрессию CD3 и CD4.

CD8 представлен на поверхности цитотоксических Т-лимфоцитов, НК-клеток, большей части тимоцитов. Это рецептор Т-клеточной активации, который облегчает распознавание клеточно-связанных антигенов МНС класса I.

CD16 используется вместе с CD56⁺ преимущественно для идентификации НК-клеток. Представлен также на макрофагах, тучных клетках, нейтрофилах, эозинофилах, НКТ-клетках. Это компонент рецепторов, связанных с IgG, опосредующих фагоцитоз, продукцию цитокинов и антителозависимую клеточную цитотоксичность.

CD56 является основным маркёром популяции НК-клеток, экспрессируется на эмбриональных, мышечных, нервных, эпителиальных клетках, некоторых активированных Т-клетках, НКТ-лимфоцитах. Молекулы CD56 отвечают за межклеточную адгезию, участвуют в контактном ингибировании роста, НК-клеточной цитотоксичности, развитии нервных клеток. Для локализации НК-клеток среди других лимфоцитов используют уникальную комбинацию из нескольких маркёров, таких, как CD16 и CD56. Однако НКТ-лимфоциты также экспрессируют на своей поверхности CD56 и CD16. Для разделения этих популяций используют молекулу CD3, так как на мембране НК-клеток экспрессия CD3 отсутствует.

CD25 рассматривают как маркёр ранней активации В- и Т-лимфоцитов, в то время как HLA-DR – поздний активационный маркёр.

CD127 представляет из себя α -цепь гетеродимерного рецептора IL-7. CD127 экспрессируется на тимоцитах, Т- и В-предшественни-

ках, зрелых Т-клетках, моноцитах и некоторых других лимфоидных и миелоидных клетках. Показано, что IL-7R играет важную роль в пролиферации и дифференцировке зрелых Т-клеток [37]. При оценке основных субпопуляций Т-лимфоцитов периферической крови особое значение уделяется анализу Т-регуляторных клеток, которые имеют фенотип $CD4^+CD25^{bright}CD127^{low}$ и обладают высокой иммуносупрессивной активностью [21].

6.4. Тактика гейтирования при исследовании субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток периферической крови

Гейтированием называют выделение интересующей популяции клеток для дальнейшего анализа.

Гейтирование при исследовании субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток периферической крови проводится в двух пробирках.

В первой пробирке исследуются следующие субпопуляции иммунокомпетентных клеток: относительное количество лимфоцитов, Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов, НК-клеток и НКТ-клеток, HLA-DR-позитивных Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов, значение иммунорегуляторного индекса.

Данные показатели отражены в гистограммах от А до I (рис. 10-18).

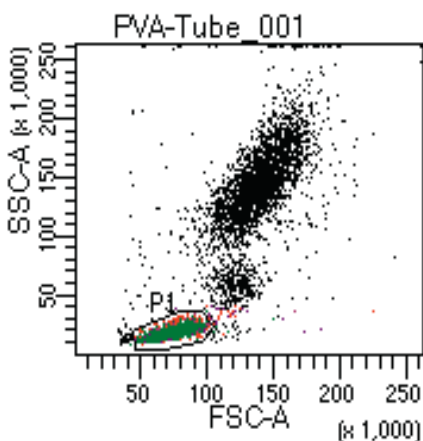


Рис. 10. Гистограмма А. Локализация области лимфоцитов по морфологическим признакам. По оси абсцисс – прямое (малоугло-

вое) светорассеяние (FSC). Интенсивность рассеянного под малым углом света пропорциональна размеру клетки. По оси ординат – боковое светорассеяние (рассеяние света под углом 90°, SSC), которое позволяет судить о сложности внутреннего строения клетки (соотношение ядро/цитоплазма, наличие гранул, других внутриклеточных включений) (оригинальный рисунок).

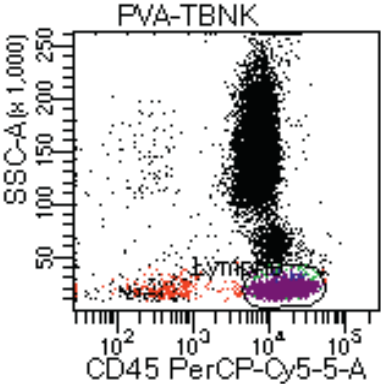


Рис. 11. Гистограмма В. Выделение зоны анализа лимфоцитов по экспрессии CD45. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD45, по оси ординат – боковое светорассеяние, характеризующее сложность организации цитоплазмы клеток (SSC) (оригинальный рисунок).

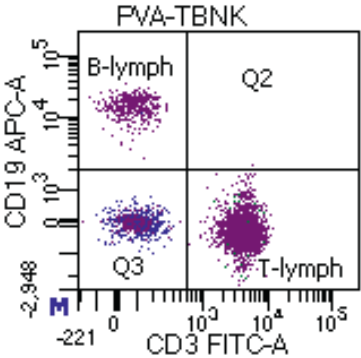


Рис. 12. Гистограмма С. Анализ экспрессии CD19 и CD3 лимфоцитами периферической крови. По оси абсцисс – интенсивность флу-

оресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD19. В области CD3+CD19 – располагается популяция Т-лимфоцитов, в зоне CD3-CD19+ находится популяция В-лимфоцитов (оригинальный рисунок).

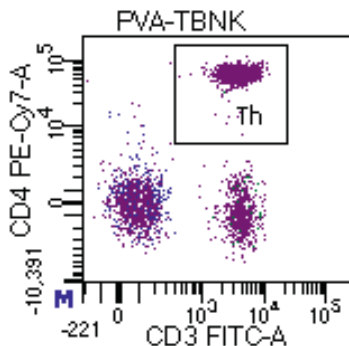


Рис. 13. Гистограмма D. Определение относительного содержания Т-хелперов от лимфоцитов периферической крови. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD4. Популяция Т-хелперов располагается в области CD3+CD4+ (оригинальный рисунок).

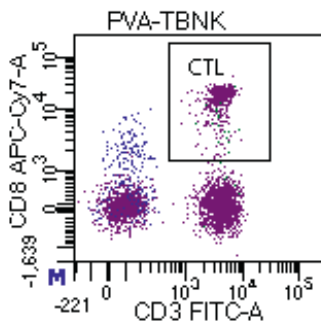


Рис. 14. Гистограмма E. Выявление процентного содержания цитотоксических Т-клеток от лимфоцитов периферической крови. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD8. В зоне CD3+CD8+ находится популяция цитотоксических Т-клеток (оригинальный рисунок).

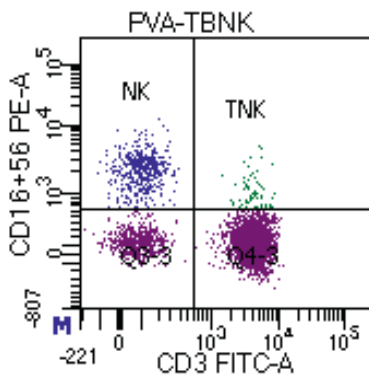


Рис. 15. Гистограмма F. Анализ экспрессии CD16, CD56 и CD3 лимфоцитами периферической крови. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD16, CD56. В области CD3+CD16+CD56+ располагается популяция NKT-клеток, в зоне CD3-CD16+CD56+ находится популяция NK-клеток (оригинальный рисунок).

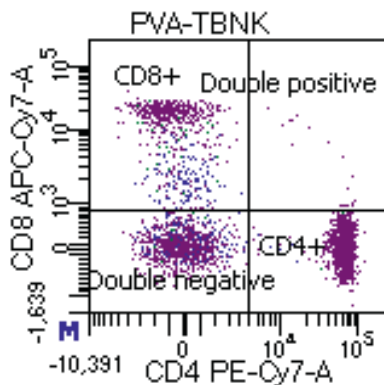


Рис. 16. Гистограмма G. Двухпараметрическая гистограмма распределения субпопуляций Т-лимфоцитов периферической крови. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD4, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD8. Анализ коэкспрессии CD4 и CD8 Т-лимфоцитами. Выявление дважды позитивных Т-лимфоцитов (CD3+CD4+CD8+) и Т-клеток, не экспрессирующих CD4 и CD8 (CD3+CD4-CD8-) (оригинальный рисунок).

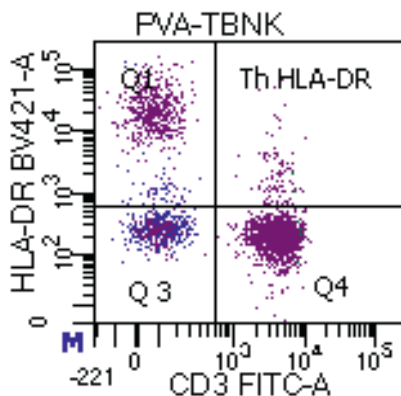


Рис. 17. Гистограмма Н. Анализ экспрессии HLA-DR Т-хелперами периферической крови. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции HLA-DR. На гистограмме показаны все популяции лимфоцитов. В области CD3+HLA-DR+ располагаются Т-лимфоциты, позитивные по HLA-DR (оригинальный рисунок).

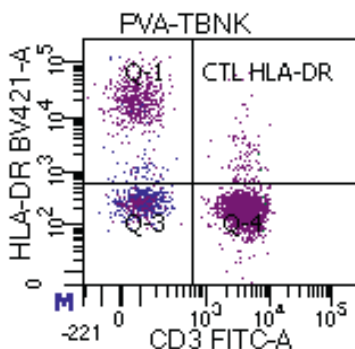


Рис. 18. Гистограмма I. Анализ экспрессии HLA-DR цитотоксическими Т-лимфоцитами периферической крови. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции HLA-DR. На гистограмме представлены все популяции лимфоцитов. В области CD3+HLA-DR+ располагаются цитотоксические Т-лимфоциты, позитивные по HLA-DR (оригинальный рисунок).

Во второй пробирке исследуются следующие показатели: относительное количество Т-регуляторных клеток, CD25-позитивных Т-хелперов.

Вышеуказанные параметры отражены на гистограммах А-Д (рис. 19-22).

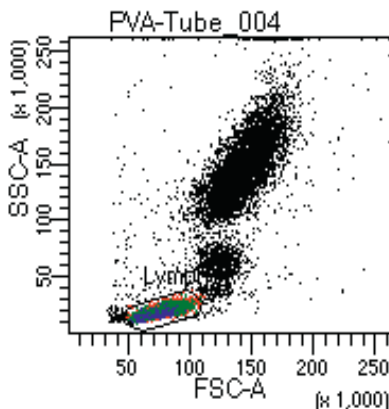


Рис. 19. Гистограмма А. Выделение зоны анализа лимфоцитов по морфологическим признакам. По оси абсцисс – прямое (малоугловое) светорассеяние (FSC), по оси ординат – боковое светорассеяние (рассеяние света под углом 90°, SSC) (оригинальный рисунок).

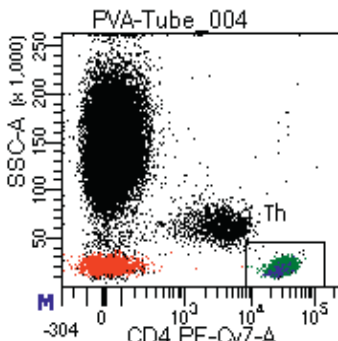


Рис. 20. Гистограмма В. Анализ экспрессии CD4 лимфоцитами периферической крови. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD4, по оси ординат – боковое светорассеяние, характеризующее сложность организации цитоплазмы клеток (SSC). На гистограмме представлены все популяции лейкоцитов. Выделение гейта лимфоцитов, экспрессирующих CD4 (оригинальный рисунок).

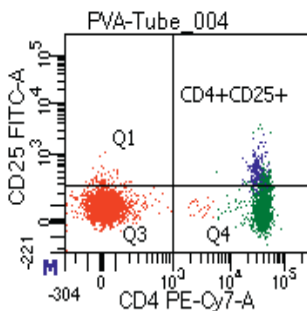


Рис. 21. Гистограмма С. Анализ экспрессии CD25 Т-хелперами периферической крови. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD4, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD25. В области CD4+CD25+ располагаются Т-хелперы, позитивные по CD25 (оригинальный рисунок).

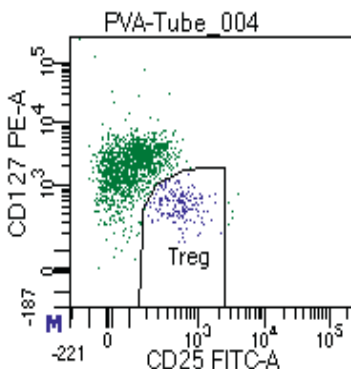


Рис. 22. Гистограмма D. Выявление регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови на основании коэкспрессии CD127 и CD25 среди Т-хелперов. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD25, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD127. Т-регуляторные клетки имеют фенотип CD4+CD25^{bright}CD127^{low} (оригинальный рисунок).

6.5. Анализ экспрессии иммунофенотипических маркёров дендритных клеток

Дифференцировку и созревание дендритных клеток оценивают по уровню экспрессии следующих иммунофенотипических маркёров:

CD83 является членом суперсемейства иммуноглобулинов и высокоспецифическим антигеном зрелых дендритных клеток. Играет важную роль в презентации антигена и клеточных взаимодействиях, которые приводят к активации Т-лимфоцитов.

HLA-DR принадлежит к молекулам главного комплекса тканевой совместимости класса II (МНС II класса), ответственным за представление антигена Т-лимфоцитам. Генерация защитного противоопухолевого иммунитета зависит от презентации опухолеассоциированных антигенов (ОАА) дендритными клетками.

CD14 представляет собой рецептор для обнаружения бактериального липополисахарида (LPS) и является одним из основных маркёров для моноцитов. Дифференцировка моноцитов в дендритные клетки сопровождается утратой маркёра CD14.

CD1a входит в семейство трансмембранных гликопротеинов CD1, локализованных на поверхности антигенпрезентирующих клеток. Белки CD1 опосредуют презентацию преимущественно липидных и гликолипидных антигенов бактериального происхождения Т-клеткам.

CD80 представляет собой высокогликозилированный одноцепочечный белок. Лигандами для данного антигена служат молекулы, экспрессируемые на Т-лимфоцитах (CD28 и CD152). Контакт CD80 с лигандами обеспечивает проведение костимуляторных сигналов, которое приводит к активации, пролиферации и дифференцировке Т-клеток.

CD86 – мембранный белок суперсемейства иммуноглобулинов, экспрессированный на антигенпрезентирующих клетках, который действует как костимулирующий сигнал для активации и выживания Т-лимфоцитов. CD86 взаимодействует с теми же лигандами, что и CD80: лиганд CD28 и лиганд CD152 (CTLA-4).

CCR7 является рецептором β -хемокинов для двух лигандов – CCL19 и CCL21. CCL19/ELC – хемокин, индуцируемый вирусом Эпштейна-Барр. CCL21 секретируется эндотелиальными клетками лимфатических сосудов. Кроме того, сами ДК продуцируют CCL19, который привлекает наивные Т-лимфоциты в непосредственную близость к ДК для презентации антигенов. Созревание ДК сопровождается быстрым снижением поверхностной экспрессии рецепторов к воспалительным хемокинам, а вместо них экспрессируются рецепторы хемокинов, направляющих клетки сначала в лимфатический сосуд, а затем в Т-клеточную зону лимфатического узла.

CD209. Важной особенностью DC-SIGN-(CD209)-рецептора является его способность связываться с молекулой межклеточной адгезии ICAM-3 – лигандом β 2-интегринов, что определяет его участие в процессах сосудистого роллинга и миграции миелоидных предшественников дендритных клеток из кровотока в ткани. Присутствие С-лектиновых молекул на поверхности дендритных клеток дает им возможность, в отличие от многих других клеток организма, осуществлять большую работу по эндоцитозу.

CD40 – член суперсемейства TNF-рецепторов, является коstimуляторным белком, обнаруженным на антигенпрезентирующих клетках. Его лигандом служит молекула CD154 (CD40L), которая в основном экспрессируется на активированных Т-клетках. Контакт CD40 с лигандом CD40L передает сигнал для активации дендритных клеток, что приводит к усилению регуляции CD80, CD86 и других коstimулирующих молекул для оптимальной индукции опосредованного Т-клетками иммунного ответа.

Вышеуказанные маркёры обеспечивают взаимодействия ДК с Т-лимфоцитами (рис. 23).

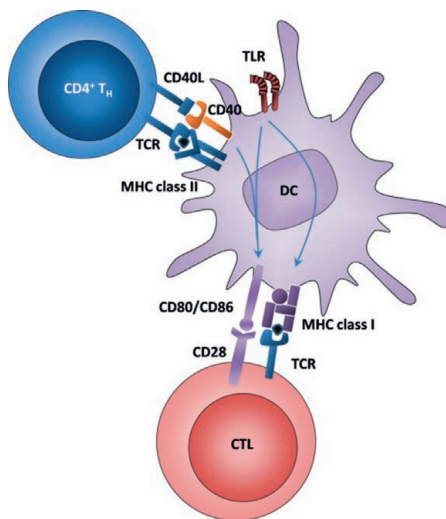


Рис. 23. Взаимодействие $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцита с антигенпрезентирующей клеткой (ДК) (по Thaiss С.А., 2011).

Дифференцировка миелоидных предшественников в ДК сопровождается закономерной сменой фенотипов. Анализ экспрессии

дифференцировочных антигенов ДК на разных стадиях созревания демонстрирует следующие параметры:

- дендритные клетки к 7-му дню дифференцировки характеризуются появлением молекулы CD1a и утратой CD14 антигена;

- созревание ДК сопровождается высокой экспрессией маркера дифференцировки CD83 и усилением экспрессии костимулирующих молекул CD80, CD86, CD40;

- уровень молекул хемокинового рецептора CCR7, обеспечивающего миграцию созревающих ДК в лимфатические узлы, увеличивается от незрелых ДК к популяциям более дифференцированных зрелых ДК;

- на созревание дендритных клеток указывает и высокий уровень белков, участвующих в презентации антигена (HLA DR) на 7-й и 9-й день культивирования;

- степень зрелости ДК определяют по коэкспрессии антигенов CD1a и CD83. К 9-му дню культивирования снижается содержание незрелых ДК с фенотипом CD1a+CD83- и повышается количество зрелых ДК (CD1a-CD83+);

- присутствие молекулы DC-SIGN (CD209) на поверхности ДК CD209+CD83+ дает возможность осуществлять активную работу по эндоцитозу, а также участвовать в процессах сосудистого роллинга и их миграции из кровотока в ткани. Увеличение дендритных клеток с иммунофенотипом CD209+CD83+ к 9-му дню культивирования также отражает степень зрелости ДК.

Таким образом, зрелые CD14-, CD1alow, CD83high, HLA-DRhigh, CD80high, CD86high, CCR7high ДК, дифференцированные из моноцитов периферической крови, обладают выраженной функциональной активностью, определяемой по экспрессии молекул активации, миграции и костимулирующих сигналов (рис. 24, 25).

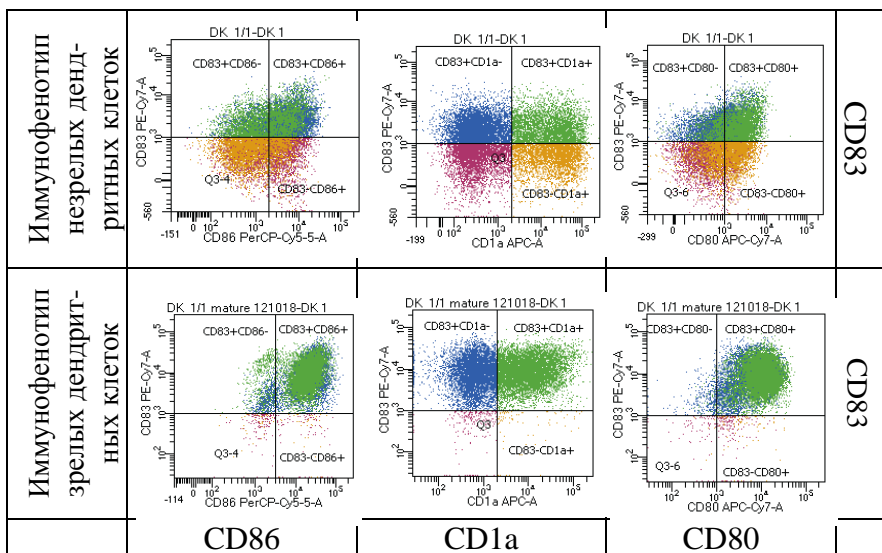
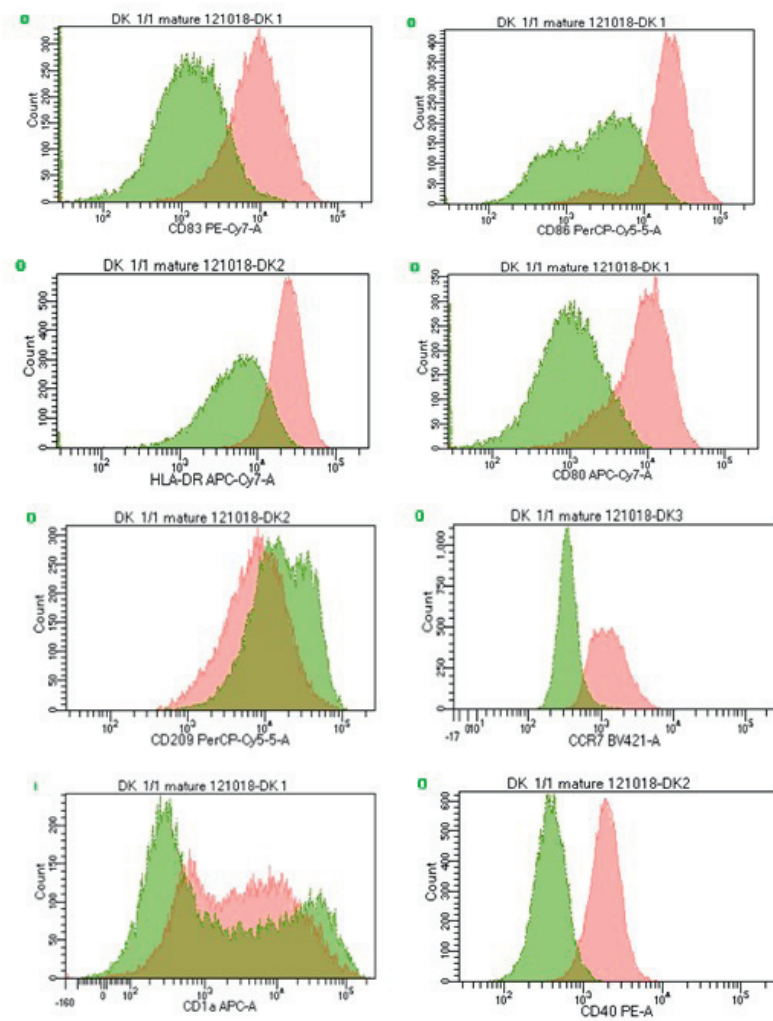


Рис. 24. Результаты оценки иммунофенотипа дендритных клеток по коэкспрессии маркёров методом проточной цитофлуориметрии (оригинальный рисунок).



*Незрелые ДК – зеленый цвет, зрелые ДК – красный

Рис. 25. Сравнение иммунофенотипа незрелых и зрелых ДК (оригинальный рисунок).

Контрольные вопросы:

- 1 Современные представления о работе иммунной системы. Иммунный ответ. Иммуитет. Определение. Виды иммуитета.
- 2 Клетки иммунной системы, обеспечивающие врожденный иммуитет.
- 3 Принципы распознавания чужеродных агентов клетками врожденного звена иммуитета.
- 4 Фагоцитоз. Клеточные и молекулярные механизмы фагоцитоза. Роль фагоцитоза в иммунной защите.
- 5 Цитокины. Провоспалительные и противовоспалительные цитокины. Роль цитокинов в иммунной защите.
- 6 Система комплемента. Факторы комплемента как компонент системы неспецифической резистентности организма.
- 7 Иммунологическое разнообразие. Клональная селекция лимфоцитов и ее механизмы. Значение апоптоза в развитии лимфоцитов и иммунном ответе.
- 8 Клетки иммунной системы, обеспечивающие приобретенный иммуитет. Принципы распознавания чужеродных агентов клетками приобретенного звена иммуитета.
- 9 Особенности распознавания антигенов рецепторами В- и Т-клеток.
- 10 Иммунологическая память.
- 11 Гуморальный иммунный ответ.
- 12 Особенности дифференцировки антителообразующих клеток и продукции антител.
- 13 Цитотоксический тип клеточного иммунного ответа.
- 14 Развитие цитотоксических Т-лимфоцитов, их маркёры.
- 15 Т-лимфоциты хелперы и их роль в поддержании иммунного гомеостаза. Маркёры Т-лимфоцитов хелперов.
- 16 Лимфопоз. Этапы лимфопоза. Основные маркёры лимфоцитов. Цитокины, контролирующие лимфопоз.
- 17 Дендритные клетки. Происхождение, разновидности, дифференцировка, маркёры дифференцировки. Функции дендритных клеток.
- 18 НК-клетки («естественные киллеры»). Маркёры. Роль в иммуитете.
- 19 НКТ-клетки. Маркёры. Механизмы распознавания чужеродных клеток.
- 20 Т-лимфоциты. Строение Т-клеточного рецептора. Селекция клонов тимоцитов.

21 Роль регуляторных Т-клеток в поддержании иммунного гомеостаза, их функции.

22 Современные вакцины. Иммунологические адъюванты. Оптимальные адъюванты для эффективных вакцин.

23 Наследственные онкологические синдромы. Мутантные гены, повышающие риск злокачественных опухолей.

24 Онкоиммунология. Концепция иммунного редактирования.

25 Линейная и разветвленная теории эволюция рака.

26 Иммунный ответ организма на опухоль.

27 Клеточные компоненты врожденного и приобретенного противоопухолевого иммунного ответа.

28 Антигены, ассоциированные с опухолью.

29 Механизмы ускользания опухоли от иммунологического надзора.

30 Классификация иммунотерапии рака.

31 Системная неспецифическая иммуностимуляция.

32 Локальные методы иммунотерапии.

33 Активная специфическая иммунотерапия. Вакциноterapia.

34 Пассивная неспецифическая иммунотерапия. Адоптивная клеточная терапия.

35 Пассивная специфическая иммунотерапия. Терапия ингибиторами блокаторов иммунного ответа.

36 Особенности оценки противоопухолевого иммунного ответа при лечении онкоиммунологическими препаратами.

37 Современные показания к применению онкоиммунологических препаратов.

38 Противопоказания к применению онкоиммунологических препаратов.

39 Место биотерапии в лекарственном лечении онкологических заболеваний.

40 Имуноопосредованные нежелательные явления (иоНЯ). Препараты, применение которых ассоциируется с иоНЯ.

41 Механизмы развития иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ).

42 Симптомы иммуноопосредованных нежелательных явлений иоНЯ. Оценка степени тяжести (иоНЯ). Шкала токсичности.

43 Определение риска иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ). Обследования при подозрении на развитие иоНЯ.

44 Алгоритм обследования при развившемся иммуноопосредованном нежелательном явлении (иоНЯ).

45 Принципы терапии иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ). Терапия кожной токсичности.

46 Принципы терапии иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ). Алгоритм терапии иоНЯ со стороны печени.

47 Принципы терапии иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ). Алгоритм терапии иоНЯ со стороны желудочно-кишечного тракта.

48 Принципы терапии иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ). Алгоритм терапии иоНЯ с поражением легких.

49 Принципы терапии иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ). Алгоритм терапии иоНЯ с поражением эндокринной системы.

50 Принципы терапии иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ). Алгоритм терапии синдрома выброса цитокинов.

51 Анафилаксия. Механизмы развития. Патогенез.

52 Анафилаксия. Диагностика. Клинические симптомы.

53 Анафилаксия. Принципы и этапы оказания медицинской помощи.

54 Персонализированная клеточная иммунотерапия рака. Виротерапия.

55 Антигенспецифическая Т-клеточная иммунотерапия. Адоптивная иммунотерапия анти-CD19 CAR Т-клетками.

56 Цели и задачи клеточной биотехнологии. Вакцины. Клеточная иммунотерапия.

57 Эмбриональные стволовые клетки. Использование стволовых клеток в медицине.

58 Генетически модифицированные клетки и генная терапия. Использование генетически модифицированных клеток в терапевтических целях.

59 Этапы получения первичной культуры клеток. Принципы и условия культивирования клеточных линий.

60 Некроз и апоптоз как формы клеточной гибели. Нарушение механизмов апоптоза в опухолевых клетках и другие заболевания, связанные с нарушением регуляции апоптоза.

61 Контаминация клеточных линий микроорганизмами. Способы предотвращения контаминаций.

62 Коллекции клеточных культур. Свойства клеточных линий. Характеристики и изменчивость клеточных линий.

63 Принципы криоконсервирования и хранения культивируемых клеток. Криопротекторы.

- 64 Последовательность этапов работы с биологическими образцами. Система контроля качества биологических образцов.
- 65 Правила работы в стерильном модуле. Зоны стерильности.
- 66 Экстренные мероприятия в случае бактериологической контаминации клеточных культур и ДК-вакцин.
- 67 Приемы работы с клеточными культурами опухолевых клеток.
- 68 Этапы приготовления РТА+-содержащего опухолевого лизата.
- 69 Криоконсервирование. Техника безопасности при работе с жидким азотом.
- 70 Требования к условиям производства БМКП.
- 71 Этапы создания дендритноклеточной вакцины.
- 72 Проточная цитофлуориметрия. Принцип метода. Этапы проведения анализа.
- 73 Методика разделения клеток (сортировка).
- 74 Мероприятия по контролю качества БМКП. Отслеживание технологического процесса приготовления БМКП.
- 75 Составление аналитического паспорта БМКП.
- 76 Общая характеристика и механизм действия анти-CTLA4-терапии.
- 77 Общая характеристика и механизм действия анти-PD1-терапии.
- 78 Возможности комбинаций современных онкоиммунологических препаратов между собой.
- 79 Возможности комбинаций современных онкоиммунологических препаратов с таргетной терапией.
- 80 Предиктивные и прогностические биомаркёры при назначении иммунотерапии.
- 81 Основные клинические исследования по применению иммуноонкологических препаратов.
- 82 Современные подходы к адьювантной иммунотерапии солидных опухолей.
- 83 Молекулярногенетическое тестирование в контексте выбора лекарственной терапии (иммунотерапии) при метастатической форме немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ).
- 84 Современные опции иммунотерапии при метастатическом плоскоклеточном раке головы и шеи.
- 85 Место иммунотерапии в лекарственном лечении рака желудка.

86 Иммуноонкологические препараты при метастатическом колоректальном раке (охарактеризовать уровни микросателлитной нестабильности).

87 Возможности иммунотерапии диссеминированного почечноклеточного рака.

88 Опухоли невыявленной первичной локализации: условия назначения иммунотерапевтических препаратов.

89 Многоформная экссудативная эритема, синдром Лайелла, синдром Стивенса-Джонсона: грозные иммуноопосредованные нежелательные явления. Клиническая картина, диагностика, лечение.

90 Особенности терапии редких иммуноопосредованных нежелательных явлений (синдром повышенной проницаемости капилляров, нефрит, панкреатит, поражение нервной системы, увеит).

Тестовые задания:

Инструкция: выберите один или несколько правильных ответов

1. При приготовлении аутологичной дендритноклеточной вакцины максимально допустимое время от забора крови до начала работы с ней составляет

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	1 час	
б	2 часа	
в	3 часа	
г	4 часа	+
д	24 часа	

2. В какие вакутейнеры осуществляется забор периферической крови с целью приготовления аутологичной дендритноклеточной вакцины

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	вакутейнеры с активатором свертывания	
б	вакутейнеры с антикоагулянтом К2-ЭДТА или К3-ЭДТА	+
в	вакутейнеры без наполнителя	
г	вакутейнеры с флуоритом натрия и оксалатом калия	
д	вакутейнеры с активатором свертывания	

3. Конечная концентрация ростового фактора GM-CSF, рекомендуемая для дифференцировки и созревания дендритных клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	8,6 нг/л	
б	90 мкг/мл	
в	8,6 мг/мл	
г	72 нг/мл	+

4. Конечная концентрация ростового фактора IL-4, рекомендуемая для дифференцировки и созревания дендритных клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	50 нг/мл	
б	80 нг/мл	
в	20 нг/мл	+
г	4 мкг/мл	

5. Конечная концентрация ростового фактора TNF- α , рекомендуемая для созревания дендритных клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	20 нг/мл	+
б	80 нг/мл	
в	45 нг/мл	
г	4 мкг/мл	

6. Процедура получения готового БМКП на основе дендритных клеток из МНК периферической крови составляет

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	6-7 дней	
б	8-9 дней	
в	9-10 дней	+
г	11-12 дней	

7. Для культивирования дендритных клеток из МНК периферической крови рекомендуется использовать питательные среды

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	с добавлением 5% телячьей эмбриональной сыворотки	
б	с добавлением 20% телячьей эмбриональной сыворотки	
в	с добавлением 30% телячьей эмбриональной сыворотки	
г	без добавления телячьей эмбриональной сыворотки	+

8. В процессе приготовления БМКП из МНК периферической крови на 3-й день культивирования клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	добавляют ростовые факторы GM-CSF и IL-4 в рабочих концентрациях	+
б	производится смена культуральной среды	
в	проводится сенсibilизация опухолевыми антигенами	
г	образцы культуральной среды отбирают на бактериологический анализ	

9. При положительном результате бактериологического посева проб, взятых в процессе приготовления БМКП

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	клеточный материал утилизируется	+
б	производится смена среды с добавлением пенициллина	
в	производится смена среды с добавлением стрептомицина	
г	производится добавление антибиотиков без смены среды	

10. Для выделения мононуклеаров из периферической крови в процессе приготовления аутологичной дендритноклеточной вакцины используют метод

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	осмотического шока	
б	градиентного центрифугирования	+
в	иммуномагнитной сепарации	
г	аффинной хроматографии	

11. Внесение ростовых факторов и цитокинов в процессе приготовления БМКП на основе дендритных клеток осуществляется на

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	1, 2, 5, 9 дни культивирования	
б	3, 5, 8 дни культивирования	
в	1, 4, 6, 9 дни культивирования	
г	1, 3, 5, 7 дни культивирования	+

12. Оптимальное время, необходимое для разделения лимфоцитов и моноцитов в процессе приготовления БМКП на основе дендритных клеток методом адгезии на пластике, составляет

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	1 час	
б	2 часа	+
в	3 часа	
г	4 часа	

13. В процессе приготовления БМКП из МНК периферической крови на 5-й день культивирования клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	добавляют ростовые факторы GM-CSF и IL-4 в рабочих концентрациях	+
б	производится смена культуральной среды	
в	проводится сенсibilизация опухолевыми антигенами	
г	образцы культуральной среды отбирают на бактериологический анализ	

14. В процессе приготовления БМКП на основе аутологичных дендритных клеток из МНК периферической крови на 7-й день культивирования клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	вносятся растворы GM-CSF, IL-4 и TNF- α в рабочих концентрациях	+
б	производится криоконсервация зрелых ДК	
в	проводится сенсibilизация опухолевыми антигенами	+
г	образцы культуральной среды отбирают на бактериологический анализ	+
д	вносится раствор антибиотика в рабочей концентрации	

15. В процессе криоконсервации ДК с целью получения БМКП наивысшего качества оптимальная скорость охлаждения в диапазоне от +4°C до -40°C составляет

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	-1°C/мин	+
б	-2°C/мин	
в	-5°C/мин	
г	-10°C/мин	

16. В процессе криоконсервации ДК с целью получения БМКП наивысшего качества оптимальная скорость охлаждения в диапазоне от -40°C до -120°C, составляет

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	-1°C/мин	
б	-2°C/мин	
в	-5°C/мин	+
г	-10°C/мин	

17. Незрелые дендритные клетки экспрессируют

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD56	
б	CD14	
в	CD1a	+
г	CD86	+
д	CD3	

18. Оценку дифференцировки зрелых дендритных клеток производят по уровню экспрессии следующих иммунофенотипических маркёров

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD56	
б	CD86	+
в	CD83	+
г	CD80	+
д	CD3	
е	CD14	

19. Функциональные подтипы дендритных клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	регуляторные	
б	миелоидные	+
в	цитотоксические	
г	плазматоцитоподобные	+
д	фолликулярные	+

20. Основная функция дендритных клеток в организме человека

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	активация комплемента по альтернативному пути	
б	формирование иммунологической памяти	
в	презентация антигенов Т-лимфоцитам	+
г	непосредственное уничтожение опухолевых клеток	

21. Проточная цитометрия – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	метод, основанный на обработке срезов тканей специфическими антителами к выявляемому веществу, которое в данной ситуации служит антигеном	
б	метод определения в образце специфичных белков, основанный на их электрофорезе в полиакриламидном геле	
в	метод исследования, основанный на измерении светорассеяния и специфической флуоресценции	+
г	метод изучения определенных антител или антигенов в сыворотке крови больных, основанный на реакциях иммунитета	

22. Гейтирование популяции лимфоцитов в периферической крови проводится по экспрессии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD14	
б	CD45	+
в	CD16	
г	CD56	

23. Анализ основных популяций Т-лимфоцитов проводится на основании оценки экспрессии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD19/CD20/CD22	
б	CD45/CD14	
в	CD3/CD4/CD8	+
г	CD16/CD56	

24. Анализ основных популяций В-лимфоцитов проводится на основании оценки экспрессии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD19/CD20/CD22	+
б	CD16/CD56	
в	CD3/CD4/CD8	
г	CD45/CD14	

25. Маркёры натуральных киллеров (NK) периферической крови

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD19/CD20/CD22	
б	CD16/CD56	+
в	CD3/CD4/CD8	
г	CD45/CD14	

26. Маркёры моноцитов периферической крови

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD19/CD20/CD22	
б	CD16/CD56	
в	CD3/CD4/CD8	
г	CD45/CD14	+

27. Т-лимфоциты хелперы периферической крови характеризуются следующим иммунофенотипом

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD3+CD4+	+
б	CD16+CD56+	
в	CD3+CD8+	
г	CD14+CD45+	

28. Цитотоксические Т-лимфоциты периферической крови характеризуются следующим иммунофенотипом

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD3+CD4+	
б	CD16+CD56+	
в	CD3+CD8+	+
г	CD14+CD45+	

29. Регуляторные Т-лимфоциты периферической крови характеризуются следующим иммунофенотипом

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD3+CD8+	
б	CD3+CD4+CD25+	
в	CD3+CD8+HLA-DR+	
г	CD3-CD16+CD56+	
д	CD4+CD25 ^{bright} CD127 ^{low}	+

30. Активированные цитотоксические Т-лимфоциты периферической крови характеризуются следующим иммунофенотипом

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD3+CD4+CD25+	
б	CD3+CD4+HLA-DR+	
в	CD3-CD16+CD56+	
г	CD3+CD8+HLA-DR+	+

31. Активированные Т-лимфоциты хелперы периферической крови характеризуются следующим иммунофенотипом

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD3+CD4+CD25+	+
б	CD3+CD4+HLA-DR+	+
в	CD3-CD16+CD56+	
г	CD3+CD8+HLA-DR+	

32. NKT-клетки периферической крови характеризуются следующим иммунофенотипом

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD3+CD8+CD45+	
б	CD3+CD4+CD25+	
в	CD3+CD8+HLA-DR+	
г	CD3-CD16+CD56+	
д	CD3+CD16+CD56+	+

33. Натуральные киллеры (NK-клетки) периферической крови характеризуются следующим иммунофенотипом

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD3+CD56+CD45+	
б	CD3+CD8+CD45+	
в	CD3+CD4+CD25+	
г	CD3+CD8+HLA-DR+	
д	CD3-CD16+CD56+	+

34. К гемопоэтическим цитокинам относят

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	GM-CSF	+
б	ИЛ-6	
в	ИЛ-7	+
г	ИЛ-3	+
д	ИЛ-10	

35. Иммунофенотип незрелых дендритных клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD14+CD1a-CD83-	
б	CD14+CD1a+CD83+	
в	CD14+CD1a-CD83-	
г	CD14-CD1a+CD83-	+

36. Иммунофенотип зрелых дендритных клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD14+CD1a+/-CD83+ CD80+CD86+HLA-DR-	
б	CD14+CD1a+/-CD83- CD80+CD86+ HLA-DR+	
в	CD14-CD1a+/-CD83+ CD80+CD86+HLA-DR+	+

37. CD4+Т-лимфоциты распознают антиген в комплексе с трансмембранными молекулами главного комплекса гистосовместимости

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	МНС-I	
б	МНС-II	+
в	МНС-III	
г	МНС-IV	

38. CD8+Т-лимфоциты распознают антиген в комплексе с трансмембранными молекулами главного комплекса гистосовместимости

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	МНС-I	+
б	МНС-II	
в	МНС-III	
г	МНС-IV	

39. Миелоидные ДК экспрессируют

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	HLA-DR	+
б	CD8	
в	CD83	+
г	CD80	+
д	CD3	
е	CD14	

40. Дифференцировка моноцитов периферической крови в дендритные клетки сопровождается утратой антигена

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD11c	
б	CD14	+
в	CD3	
г	CD83	
д	CD20	

41. Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) отражает отношение

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD4+ / CD8+	+
б	CD16+ / CD56+	
в	CD3+ / CD3-	
г	CD8+ / CD4+	

42. К антигенпрезентирующим клеткам относят

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	эозинофилы	
б	дендритные клетки	+
в	макрофаги	+
г	Т-лимфоциты	
д	В-лимфоциты	+

43. Клетки иммунной системы, распознающие антиген исключительно в комплексе с молекулой главного комплекса гистосовместимости

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	NK-клетки	
б	дендритные клетки	
в	макрофаги	
г	T-лимфоциты	+
д	B-лимфоциты	

44. Антитела в человеческом организме синтезируют

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	эозинофилы	+
б	T-лимфоциты	+
в	эпителиальные клетки	
г	плазматические клетки	+

45. В процессе клеточного иммунного ответа происходят следующие события

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	взаимодействие антигенпрезентирующей клетки с антигеном	+
б	пролиферация соответствующего клона плазматических клеток	
в	презентация процессированного антигена антигенпрезентирующей клеткой T-лимфоциту	+
г	активация и пролиферация соответствующего клона цитотоксических T-лимфоцитов	+
д	уничтожение клеток-мишеней	+
е	синтез специфических антител	
ж	формирование пула клеток иммунологической памяти	+

46. В процессе гуморального иммунного ответа происходят следующие события

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	взаимодействие антигенпрезентирующей клетки с антигеном	+
б	пролиферация соответствующего клона плазматических клеток	+
в	презентация процессированного антигена антигенпрезентирующей клеткой T-лимфоциту	

г	активация и пролиферация соответствующего клона цитотоксических Т-лимфоцитов	
д	уничтожение клеток-мишеней	+
е	синтез специфических антител	+
ж	формирование пула клеток иммунологической памяти	+

47. С какой частью молекулы иммуноглобулина связывается антиген

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	Fc-фрагмент	
б	Fab-фрагмент	+
в	шарнирная область	
г	H-цепь	

48. Какая часть молекулы иммуноглобулина предназначена для связи с клетками иммунной системы, несущими специфический рецептор

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	Fc-фрагмент	+
б	Fab-фрагмент	
в	шарнирная область	
г	H-цепь	

49. Центральные органы иммунной системы человека

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	селезенка	
б	костный мозг	+
в	щитовидная железа	
г	вилочковая железа	+
д	поджелудочная железа	
е	лимфатический узел	

50. Периферические органы иммунной системы человека

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	селезенка	+
б	костный мозг	
в	щитовидная железа	
г	вилочковая железа	
д	поджелудочная железа	
е	лимфатический узел	+

51. Основные процессы, происходящие в центральных органах иммунной системы человека

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	лимфопоз	+
б	пролиферация лимфоцитов	+
в	дифференцировка лимфоцитов	+
г	положительная и отрицательная селекция лимфоцитов	+
д	антигенная стимуляция иммунокомпетентных клеток	
е	выработка антител	

52. Молекулы МНС I класса присутствуют на мембранах

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	эритроцитов	
б	практически всех ядросодержащих клеток человека	+
в	дендритных клеток	+
г	макрофагов	+
д	В-лимфоцитов	+

53. Молекулы МНС II класса присутствуют на мембранах

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	эритроцитов	
б	практически всех ядросодержащих клеток человека	
в	дендритных клеток	+
г	макрофагов	+
д	В-лимфоцитов	+

54. Основные функции макрофагов в организме человека

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	фагоцитоз и внеклеточный цитолиз	+
б	презентация антигенов	+
в	супрессия, подавление иммунного ответа	
г	отторжение трансплантата	
д	продукция антител	

55. Основные функции В-лимфоцитов в организме человека

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	участие в реакциях гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)	
б	отторжение трансплантата	
в	обеспечение противоопухолевого иммунного ответа	
г	фагоцитоз и внеклеточный цитолиз	
д	продукция антител	+
е	участие в реакциях гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ)	+
ж	антителонезависимая клеточная цитотоксичность	+
з	презентация антигенов	+

56. Основные функции цитотоксических Т-лимфоцитов в организме человека

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	участие в реакциях гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)	+
б	отторжение трансплантата	+
в	обеспечение противоопухолевого иммунного ответа	+
г	фагоцитоз и внеклеточный цитолиз	
д	продукция антител	
е	участие в реакциях гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ)	
ж	антителонезависимая клеточная цитотоксичность	
з	презентация антигенов	

57. Основные функции NK-клеток в организме человека

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	антителонезависимая клеточная цитотоксичность	+
б	фагоцитоз	
в	продукция антител	
г	участие в реакциях гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)	
д	участие в реакциях гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ)	
е	презентация антигенов	

58. Основные функции регуляторных Т-лимфоцитов в организме человека

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	антителонезависимая клеточная цитотоксичность	
б	фагоцитоз	
в	супрессия иммунного ответа	+
г	продукция антител	
д	презентация антигенов	

59. Основные классы иммуноглобулинов человека

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	IgB, IgM, IgA, IgE, IgD	
б	IgG, IgM, IgS, IgC, IgE	
в	IgG, IgM, IgA, IgE, IgD	+
г	IgG, IgS, IgA, IgE, IgD	

60. Основные эффекты γ -интерферона

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	противовирусный	+
б	противоопухолевый	+
в	иммуномодулирующий	+
г	активация системы свертывания крови	

61. Фагоцитоз – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	синтез и секреция иммуноглобулинов	
б	процесс поглощения фагоцитирующими клетками твердых частиц	+
в	процесс миграции фагоцитирующих клеток из тканей в сосудистое русло	
г	процесс миграции фагоцитирующих клеток из кровеносных сосудов в ткани	

62. К стадиям фагоцитоза относятся

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	хемотаксис	+
б	пролиферация	

в	адгезия	+
г	синтез антител	
д	эндоцитоз	+
е	переваривание	+

63. К дендритным клеткам относятся

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	клетки Лангерганса	+
б	интердигитатные клетки	+
в	олигодендрциты	
г	астроциты	

64. Гуморальные факторы врожденной резистентности

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	лизоцим, комплемент	+
б	макрофаги, нейтрофилы	
в	специфические иммуноглобулины	
г	интерфероны	+
д	плазматические клетки	

65. Клеточные факторы врожденной резистентности

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	лизоцим, комплемент	
б	макрофаги, нейтрофилы	+
в	специфические иммуноглобулины	
г	естественные киллеры	+

66. Клеточные факторы приобретенной резистентности

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	Т- и В-лимфоциты	+
б	нейтрофилы	
в	специфические иммуноглобулины	
г	естественные киллеры	

67. Гуморальные факторы приобретенной резистентности

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	Т- и В-лимфоциты	
б	макрофаги, нейтрофилы	
в	специфические иммуноглобулины	+
г	интерфероны	
д	плазматические клетки	

68. Пусковым этапом активации системы комплемента по классическому пути является

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	фагоцитоз	
б	формирование иммунного комплекса	+
в	взаимодействие с эндотоксинами некоторых Гр-бактерий	
г	активация лимфоцитов	

69. Альтернативный путь активации системы комплемента инициирует

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	фагоцитоз	
б	формирование иммунного комплекса	
в	взаимодействие с эндотоксинами некоторых Гр-бактерий	+
г	активация лимфоцитов	

70. Конечным результатом активации системы комплемента является

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	хемотаксис нейтрофилов	
б	пролиферация клона цитотоксических Т-лимфоцитов	
в	образование мембраноатакующего комплекса	+
г	синтез антител	

71. Антигены – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	белковые молекулы, несущие генетически чужеродную информацию и способные индуцировать иммунный ответ	+
б	сложные белковые молекулы, синтезируемые плазматическими клетками в процессе иммунного ответа	
в	биологически активные пептиды, обеспечивающие взаимодействие клеток иммунной системы	
г	цитотоксические белки, содержащиеся в гранулах Т-лимфоцитов и НК-лимфоцитов (естественных киллеров)	
д	цистеиновые протеазы, главные эффекторы апоптоза, существующие в каждой клетке в неактивной форме	

72. Антитела – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	белковые молекулы, несущие генетически чужеродную информацию и способные индуцировать иммунный ответ	
б	сложные белковые молекулы, синтезируемые плазматическими клетками в процессе иммунного ответа	+
в	биологически активные пептиды, обеспечивающие взаимодействие клеток иммунной системы	
г	цитотоксические белки, содержащиеся в гранулах Т-лимфоцитов и НК-лимфоцитов (естественных киллеров)	
д	цистеиновые протеазы, главные эффекторы апоптоза, существующие в каждой клетке в неактивной форме	

73. Каспазы – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	белковые молекулы, несущие генетически чужеродную информацию и способные индуцировать иммунный ответ	
б	сложные белковые молекулы, синтезируемые плазматическими клетками в процессе иммунного ответа	

в	биологически активные пептиды, обеспечивающие взаимодействие клеток иммунной системы	
г	цитотоксические белки, содержащиеся в гранулах Т-лимфоцитов и НК-лимфоцитов (естественных киллеров)	
д	цистеиновые протеазы, главные эффекторы апоптоза, существующие в каждой клетке в неактивной форме	+

74. Перфорины – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	белковые молекулы, несущие генетически чужеродную информацию и способные индуцировать иммунный ответ	
б	сложные белковые молекулы, синтезируемые плазматическими клетками в процессе иммунного ответа	
в	биологически активные пептиды, обеспечивающие взаимодействие клеток иммунной системы	
г	цитотоксические белки, содержащиеся в гранулах Т-лимфоцитов и НК-лимфоцитов (естественных киллеров)	+
д	цистеиновые протеазы, главные эффекторы апоптоза, существующие в каждой клетке в неактивной форме	

75. Цитокины – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	белковые молекулы, несущие генетически чужеродную информацию и способные индуцировать иммунный ответ	
б	сложные белковые молекулы, синтезируемые плазматическими клетками в процессе иммунного ответа	
в	биологически активные пептиды, обеспечивающие взаимодействие клеток иммунной системы	+
г	цитотоксические белки, содержащиеся в гранулах Т-лимфоцитов и НК-лимфоцитов (естественных киллеров).	
д	цистеиновые протеазы, главные эффекторы апоптоза, существующие в каждой клетке в неактивной форме	

76. Иммунологическая толерантность – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	выраженный иммунный ответ при низкой дозе антигена	
б	высокая иммуногенность антигена	
в	отсутствие активации иммунокомпетентных клеток и иммунного ответа при наличии специфических антигенов	+
г	активация иммунокомпетентных клеток при отсутствии специфических антигенов	

77. Способность антигена вызывать иммунный ответ – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	цитотоксичность	
б	вариабельность	
в	специфичность	
г	иммуногенность	+
д	чужеродность	

78. Для усиления иммунного ответа на введение антигенов используют

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	интегрины	
б	селектины	
в	опсонины	
г	адьюванты	+

79. Иммуитет – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	способ защиты организма от действия различных веществ и организмов с целью поддержания постоянства внутренней среды	+
б	регулируемый процесс программируемой клеточной гибели, в результате которого клетка распадается на отдельные фрагменты, ограниченные плазматической мембраной	
в	нерегулируемый процесс разрушения клеточных структур, сопровождающийся нарушением целостности мембран и выходом содержимого во внеклеточное пространство	
г	направленное движение одноклеточных организмов или подвижных клеток многоклеточных в ответ на химический раздражитель	

80. Хемотаксис – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	способ защиты организма от действия различных веществ и организмов с целью поддержания постоянства внутренней среды	
б	регулируемый процесс программируемой клеточной гибели, в результате которого клетка распадается на отдельные фрагменты, ограниченные плазматической мембраной	
в	нерегулируемый процесс разрушения клеточных структур, сопровождающийся нарушением целостности мембран и выходом содержимого во внеклеточное пространство	
г	направленное движение одноклеточных организмов или подвижных клеток многоклеточных в ответ на химический раздражитель	+

81. Апоптоз – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	способ защиты организма от действия различных веществ и организмов с целью поддержания постоянства внутренней среды	
б	регулируемый процесс программируемой клеточной гибели, в результате которого клетка распадается на отдельные фрагменты, ограниченные плазматической мембраной	+
в	нерегулируемый процесс разрушения клеточных структур, сопровождающийся нарушением целостности мембран и выходом содержимого во внеклеточное пространство	
г	направленное движение одноклеточных организмов или подвижных клеток многоклеточных в ответ на химический раздражитель	

82. Некроз – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	способ защиты организма от действия различных веществ и организмов с целью поддержания постоянства внутренней среды	
б	регулируемый процесс программируемой клеточной гибели, в результате которого клетка распадается на отдельные фрагменты, ограниченные плазматической мембраной	
в	нерегулируемый процесс разрушения клеточных структур, сопровождающийся нарушением целостности мембран и выходом содержимого во внеклеточное пространство	+
г	направленное движение одноклеточных организмов или подвижных клеток многоклеточных в ответ на химический раздражитель	

83. Провоспалительные цитокины – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ИЛ-4, ИЛ-10	
б	TGF β	
в	γ -интерферон	+
г	TNF α	+
д	ИЛ-1, ИЛ-6	+

84. Противовоспалительные цитокины – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ИЛ-4, ИЛ-10	+
б	TGF β	+
в	γ -интерферон	
г	TNF α	
д	ИЛ-1, ИЛ-6	

85. Особенности врожденного иммунитета

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	отсутствие иммунологической памяти	+
б	формирование иммунологической памяти	
в	для активации требуются антигенпрезентирующие клетки	
г	для активации не требуются антигенпрезентирующие клетки	+
д	неспецифичен по отношению к патогену	+
е	специфичен по отношению к патогену	
ж	передается по наследству	+
з	не наследуется	

86. Особенности адаптивного иммунитета

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	отсутствие иммунологической памяти	
б	формирование иммунологической памяти	+
в	для активации требуются антигенпрезентирующие клетки	+
г	для активации не требуются антигенпрезентирующие клетки	
д	неспецифичен по отношению к патогену	
е	специфичен по отношению к патогену	+
ж	передается по наследству, обуславливая видовую невосприимчивость	
з	не наследуется, обеспечивая индивидуальную защиту	+

87. Иммунологический синапс – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	циркулирующее в крови соединение из специфических иммуноглобулинов, компонентов компонента и антигена	
б	контактная зона между TCR или BCR и комплексом антиген/HLA	+
в	трансмембранный канал, нарушающий целостность структуры мембраны клетки-мишени	
г	местоположение определённого гена на генетической или цитологической карте хромосомы	

88. Генетический локус – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	циркулирующее в крови соединение из специфических иммуноглобулинов, компонентов компонента и антигена	
б	контактная зона между TCR или BCR и комплексом антиген/HLA	
в	трансмембранный канал, нарушающий целостность структуры мембраны клетки-мишени	
г	местоположение определённого гена на генетической или цитологической карте хромосомы	+

89. Иммунный комплекс – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	циркулирующее в крови соединение из специфических иммуноглобулинов, компонентов компонента и антигена	+
б	контактная зона между TCR или BCR и комплексом антиген/HLA	
в	трансмембранный канал, нарушающий целостность структуры мембраны клетки-мишени	
г	местоположение определённого гена на генетической или цитологической карте хромосомы	

90. Мембраноатакующий комплекс – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	циркулирующее в крови соединение из специфических иммуноглобулинов, компонентов комплекса и антигена	
б	контактная зона между TCR или BCR и комплексом антиген/HLA	
в	трансмембранный канал, нарушающий целостность структуры мембраны клетки-мишени	+
г	местоположение определённого гена на генетической или цитологической карте хромосомы	

91. Химерные антитела – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	антитела, полученные с использованием аффинной хроматографии	
б	антитела, полученные от особых видов генетически модифицированных мышей	
в	рекомбинантные антитела, содержащие элементы иммуноглобулина разных видов организмов	+

92. Моноклональные антитела используются для

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	лечения заболеваний	+
б	проточной цитометрии	+
в	аффинной хроматографии	
г	вестерн блот-анализа	+
д	геномного секвенирования	

93. Специфические антитела определяются в сыворотке крови после первичного контакта с антигеном спустя

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	5-7 часов	
б	1 день	
в	5-7 дней	+
г	1 месяц	
д	только после вторичного контакта с этим антигеном	

94. В реализации антибактериального иммунного ответа главную роль играют

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	циркулирующие антитела, дендритные клетки, фагоциты, комплемент	+
б	циркулирующие антитела, дендритные клетки, цитотоксические Т-лимфоциты, интерфероны	
в	цитотоксические Т-лимфоциты, дендритные клетки, НК-клетки	

95. В реализации противовирусного иммунного ответа главную роль играют

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	циркулирующие антитела, дендритные клетки, фагоциты, комплемент	
б	циркулирующие антитела, дендритные клетки, цитотоксические Т-лимфоциты, интерфероны	+
в	цитотоксические Т-лимфоциты, дендритные клетки, НК-клетки	

96. В реализации противоопухолевого иммунного ответа главную роль играют

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	циркулирующие антитела, дендритные клетки, фагоциты, комплемент	
б	циркулирующие антитела, дендритные клетки, цитотоксические Т-лимфоциты, интерфероны	
в	цитотоксические Т-лимфоциты, дендритные клетки, НК-клетки	+

97. Для I степени анафилаксии характерно

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	АД не определяется, тоны сердца и дыхание не выслушиваются	
б	гемодинамические нарушения незначительны, АД снижено на 20-30 мм рт. ст. от исходных величин, может сопровождаться появлением предвестников (зуд кожи, сыпь, першение в горле, кашель)	+
в	потеря сознания, АД 60-40/0 мм рт. ст., судороги, холодный липкий пот, цианоз губ, расширение зрачков, тоны сердца глухие, сердечный ритм неправильный, пульс нитевидный	
г	непроизвольная дефекация, бронхоспазм, бледность кожи, АД 80/40 мм рт. ст., тахикардия, возможная потеря сознания	

98. Для II степени анафилаксии характерно

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	АД не определяется, тоны сердца и дыхание не выслушиваются	
б	гемодинамические нарушения незначительны, АД снижено на 20-30 мм рт. ст. от исходных величин, может сопровождаться появлением предвестников (зуд кожи, сыпь, першение в горле, кашель)	
в	потеря сознания, АД 60-40/0 мм рт. ст., судороги, холодный липкий пот, цианоз губ, расширение зрачков, тоны сердца глухие, сердечный ритм неправильный, пульс нитевидный	
г	непроизвольная дефекация, бронхоспазм, бледность кожи, АД 80/40 мм рт. ст., тахикардия, возможная потеря сознания	+

99. Для III степени анафилаксии характерно

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	АД не определяется, тоны сердца и дыхание не выслушиваются	
б	гемодинамические нарушения незначительны, АД снижено на 20-30 мм рт. ст. от исходных величин, может сопровождаться появлением предвестников (зуд кожи, сыпь, першение в горле, кашель)	
в	потеря сознания, АД 60-40/0 мм рт. ст., судороги, холодный липкий пот, цианоз губ, расширение зрачков, тоны сердца глухие, сердечный ритм неправильный, пульс нитевидный	+
г	непроизвольная дефекация, бронхоспазм, бледность кожи, АД 80/40 мм рт. ст., тахикардия, возможная потеря сознания	

100. Для IV степени анафилаксии характерно

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	АД не определяется, тоны сердца и дыхание не выслушиваются	+
б	гемодинамические нарушения незначительны, АД снижено на 20-30 мм рт. ст. от исходных величин, может сопровождаться появлением предвестников (зуд кожи, сыпь, першение в горле, кашель)	
в	потеря сознания, АД 60-40/0 мм рт. ст., судороги, холодный липкий пот, цианоз губ, расширение зрачков, тоны сердца глухие, сердечный ритм неправильный, пульс нитевидный	
г	непроизвольная дефекация, бронхоспазм, бледность кожи, АД 80/40 мм рт. ст., тахикардия, возможная потеря сознания	

101. Препаратом первого выбора для лечения анафилаксии является

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	адреналин (эпинефрин)	+
б	высокие дозы глюкокортикоидов	
в	хлорид кальция	
г	ингаляция β_2 -агонистов	

102. Клеточную культуру необходимо рассевать, если

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	индикаторный краситель в среде изменяет цвет	
б	клетки образуют монослой	+
в	появились многоядерные клетки	
г	внутри клеток появились крупные вакуоли	

103. Гбридомы образуются в результате слияния

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	лимфоцита и вируса Сендай	
б	цитотоксического Т-лимфоцита и миеломной клетки	
в	В-лимфоцита и миеломной клетки	+
г	цитотоксического Т-лимфоцита и В-лимфоцита	

104. Иммуриализированные клеточные культуры характеризуются

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	плюрипотентностью	
б	укорочением теломер	
в	способностью к дифференцировке в клетки костей, хрящей и мышц	
г	способностью к неограниченному делению	+

105. Использование живых систем и биологических структур для получения ценных для человека продуктов

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	синергетика	
б	термодинамика	
в	биотехнология	+
г	физиология	

106. Первым достижением биотехнологии в 40-х годах 20 века явилось производство

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	гормонов	
б	пенициллина	+
в	моноклональных антител	
г	стрептомицина	

107. Метаболиты – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	живые клетки	
б	продукты жизнедеятельности клеток	+
в	нежизнеспособные клетки	
г	мембраны клеток	
д	генетический материал клеток	

108. Совокупность всех процессов энергетического обмена в клетке

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	метаболизм	
б	катаболизм	+
в	анаболизм	
г	амфиболизм	

109. Информация о структуре белка зашифрована в

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	нуклеотиде	
б	гене	+
в	кодоне	
г	опероне	

110. Гликолиз – это

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	бескислородное расщепление глюкозы	+
б	кислородное расщепление глюкозы	
в	расщепление белков до аминокислот	
г	расщепление полисахаридов до моносахаров	
д	совокупность всех реакций энергетического обмена в клетке	

111. Внесение сыворотки в среду для культивирования клеток преследует цель

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	усиления клеточного метаболизма	+
б	предохранения клеток от повреждения	
в	поддержания в клетках осмотического давления	

112. Наиболее существенные характеристики стволовых клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	тотипотентность	+
б	хоминг	+
в	избыточная экспрессия генов	+
г	необратимая дифференцировка	
д	теломеразная активность	+

113. Методы доставки генов в клетку

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	натриевая трансфекция	
б	трансдукция	+
в	микроинъекция	+
г	электропорация	+
д	липофекция	+

114. Внедрение генов в клетки без использования вирусов

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	трансфекция	+
б	трансдукция	
в	трансдифференцировка	
г	пассирование	

115. Внедрение генов в клетки с использованием вирусов

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	трансфекция	
б	трансдукция	+
в	трансдифференцировка	
г	пассирование	

116. К средствам неспецифической иммунотерапии относятся

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	BCG	+
б	зимозан, летинол	+
в	Poly-A-Poly-И	+
г	витамины	+

117. К средствам специфической иммунотерапии относятся

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ауто- или аллогенная опухолевая клетка, обработанная тем или иным способом с сохранением антигенной структуры клеток	+
б	интерфероны, лимфокины	
в	препараты тимуса	
г	витамины	

118. Основоположником метода иммунотерапии злокачественных новообразований является

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	Фрэнк Бернет	
б	Пауль Эрлих	
в	Вильям Коли	+
г	Илья Ильич Мечников	

119. Опухоли, характеризующиеся высоким уровнем соматических мутаций и иммуногенностью

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	медуллобластома	
б	рак предстательной железы	
в	аденокарцинома лёгкого	+
г	меланома	+

120. Противоопухолевая вакциноterapia направлена на формирование в организме

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	пассивного специфического иммунного ответа	
б	пассивного неспецифического иммунного ответа	
в	активного специфического иммунного ответа	+
г	активного неспецифического иммунного ответа	

121. Клетки иммунной системы, участвующие в стимуляции опухолевого роста

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD8+ цитотоксические Т-лимфоциты	
б	регуляторные Т-лимфоциты	+
в	M1-макрофаги	
г	M2-макрофаги	+
д	миелоидные супрессорные клетки	+
е	дендритные клетки	

122. К механизмам ускользания опухолевых клеток от иммунного распознавания и уничтожения относятся

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	потеря опухолевых антигенов и молекул главного комплекса гистосовместимости	+
б	секреция иммуносупрессорных цитокинов и активация иммуносупрессорных клеток	+
в	использование «контрольных точек» – молекул на определенных иммунных клетках, для инактивации противоопухолевого иммунного ответа	+
г	презентация опухолевых антигенов дендритными клетками	
д	активация цитотоксических Т-лимфоцитов	

123. Высокоспециализированные антиген-презентирующие клетки организма, участвующие в противоопухолевом иммунном ответе

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	миелоидные супрессорные клетки	
б	CD8+-цитотоксические Т-лимфоциты	
в	дендритные клетки	+
г	регуляторные Т-лимфоциты	

124. Клетки иммунной системы, участвующие в подавлении опухолевого роста

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD8+-цитотоксические Т-лимфоциты	+
б	регуляторные Т-лимфоциты	
в	M1-макрофаги	+
г	M2-макрофаги	
д	миелоидные супрессорные клетки	
е	дендритные клетки	+

125. По механизму действия ипилимумаб относится к

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	мультикиназным ингибиторам	
б	ингибиторам контрольных точек иммунного ответа	+
в	ингибиторам топоизомеразы II	
г	антиметаболитам	
д	цитокинам	
е	таргетным препаратам	

126. По механизму действия вемурафениб относится к

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	таргетным препаратам	+
б	ингибиторам контрольных точек иммунного ответа	
в	ингибиторам топоизомеразы II	
г	антиметаболитам	
д	цитокинам	

127. По механизму действия интерферон-альфа относится к

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	мультикиназным ингибиторам	
б	ингибиторам контрольных точек иммунного ответа	
в	ингибиторам топоизомеразы II	
г	антиметаболитам	
д	цитокинам	+
е	таргетным препаратам	

128. Существуют следующие виды противоопухолевых вакцин

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	генномодифицированные/векторные	+
б	пептидные	+
в	опухолевые цельноклеточные	+
г	дендритные	+

129. Группы онкоиммунологических препаратов, включенные в отечественные стандарты лечения меланомы кожи

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	онколитические вирусы	
б	цитокины	+
в	ингибиторы контрольных точек иммунного ответа	+
г	CAR-модифицированные Т-лимфоциты	

130. В соответствии с современными практическими рекомендациями по лекарственному лечению злокачественных опухолей в качестве иммунотерапии I линии при распространенном немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ) с экспрессией PD-L1 в $\geq 50\%$ опухолевых клеток при отсутствии мутаций в генах EGFR или транслокации ALK/ROS1 назначается

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ИЛ-2	
б	ипилимумаб	
в	пембролизумаб	+
г	интерферон-альфа	
д	аутологичная дендритноклеточная вакцина	

131. В соответствии с современными практическими рекомендациями по лекарственному лечению рака мочевого пузыря больным промежуточного и высокого риска показана дополнительная адьювантная внутривезикулярная терапия

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	митомицином С	
б	интерфероном альфа	
в	вакциной BCG	+
г	доксорубицином	

132. В соответствии с современными практическими рекомендациями по лекарственному лечению диссеминированного почечноклеточного рака пациентам в качестве I линии терапии при любом прогнозе целесообразно использовать

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ниволумаб	
б	ИЛ-2	
в	интерферон-альфа + бевацизумаб	+
г	акситиниб	
д	пазопаниб	+
е	сунитиниб	+

133. В соответствии с современными практическими рекомендациями по лекарственному лечению диссеминированного почечноклеточного рака пациентам при прогрессировании заболевания после I линии терапии ингибиторами тирозинкиназ (сунитинибом, сорафенибом, пазопанибом) рекомендуется

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ниволумаб	+
б	ИЛ-2	
в	интерферон-альфа + бевацизумаб	
г	акситиниб	+

134. В соответствии с современными практическими рекомендациями по лекарственному лечению меланомы кожи иммунотерапия интерфероном альфа применяется в адьювантном режиме при

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	IA-IIA стадии	
б	IIIA стадии	+
в	IIIB стадии	+
г	IIIC стадии	+
д	IV стадии	

135. В соответствии с современными практическими рекомендациями по лекарственному лечению меланомы кожи приоритетным лечением I и последующих линий терапии нерезектабельной меланомы кожи III стадии и метастатической меланомы IV стадии при отсутствии висцерального криза является назначение

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ингибиторов контрольных точек иммунного ответа	+
б	комбинации ингибитора BRAF с ингибитором MEK	
в	иматиниба	
г	препаратов α -интерферона	

136. К препаратам, применение которых сравнительно часто ассоциируется с иммуноопосредованными нежелательными явлениями (иоНЯ), относятся

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ингибиторы иммунологических контрольных точек (CTLA-4 и PD-1/PDL-1)	+
б	цитокины (ИФН-альфа и ИЛ-2, особенно при использовании в высоких дозах)	+
в	ингибиторы EGFR (гефитиниб, эрлотиниб, афатиниб)	
г	ингибиторы тирозинкиназ (сунитиниб, сорафениб, пазопаниб)	

137. К иммуноопосредованным нежелательным явлениям (иоНЯ) не относятся

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	пневмонит	
б	гипофизит	
в	гайморит	+
г	тромбофлебит	+
д	гепатит	
е	асцит	+

138. Согласно принципам ступенчатого подхода к лечению иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ) проявления токсичности 3 степени требуют

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	продолжения иммунотерапии с назначением глюкокортикоидов (преднизолон 1 мг/кг/сут. внутрь или в/в)	
б	отмены иммунотерапии с назначением цитостатиков	
в	перерыва в лечении с назначением глюкокортикоидов (преднизолон 1 мг/кг/сут. внутрь или в/в)	+
г	перерыва в лечении с назначением глюкокортикоидов (преднизолон 4 мг/кг/сут. в/в)	

139. Согласно принципам ступенчатого подхода к лечению иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ) проявления токсичности 1 степени требуют

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	продолжения иммунотерапии с назначением цитостатиков	
б	продолжения иммунотерапии с назначением глюкокортикоидов (преднизолон 1 мг/кг/сут. внутрь или в/в)	
в	продолжения иммунотерапии с назначением симптоматического лечения	+
г	перерыва в иммунотерапии с назначением симптоматического лечения	

140. Согласно принципам оценки степени тяжести иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ) повышение уровней АЛТ/АСТ в сыворотке крови в 10 раз выше верхней границы нормы характеризуется как иоНЯ

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	1 степени (легкое)	
б	2 степени (среднетяжелое)	
в	3 степени (тяжелое)	+
г	4 степени (жизнеугрожающее)	

141. К препаратам ингибиторов иммунологических контрольных точек (CTLA-4 и PD-1/PDL-1) относятся

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ипилиумаб, ниволумаб, пембролизумаб	+
б	вемурафениб, кобиметиниб, траметиниб	
в	иматиниб, кризотиниб и лапатиниб	
г	сунитиниб, сорафениб, пазопаниб	
д	ипилиумаб, ниволумаб, пембролизумаб	+

142. К препаратам из группы BRAF /МЕК ингибиторов относятся

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ипилиумаб, ниволумаб, пембролизумаб	
б	вемурафениб, кобиметиниб, траметиниб	+
в	иматиниб, кризотиниб и лапатиниб	
г	сунитиниб, сорафениб, пазопаниб	
д	ипилиумаб, ниволумаб, пембролизумаб	

143. К низкомолекулярным ингибиторам тирозинкиназных рецепторов относятся

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ниволумаб, пембролизумаб	
б	трабектидин	
в	сунитиниб, сорафениб	+
г	бевацизумаб	
д	ниволумаб, пембролизумаб	

144. Иммунологические взаимоотношения между опухолью и организмом согласно современным представлениям проходят 3 последовательные стадии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	элиминация (elimination), равновесие (equilibrium) и ускользание (escape)	+
б	равновесие (equilibrium), ускользание (escape), метастазирование	
в	ускользание (escape), равновесие (equilibrium), элиминация (elimination)	

145. Опухолеассоциированные антигены, которые выявляются в опухолях различных типов, в норме синтезирующиеся в клетках яичка и трофобласта и являющиеся наиболее перспективной мишенью для иммунотерапии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	MAGE, NY-ESO-1	+
б	ALK, ROS1	
в	KRAS, NRAS	
г	PSA	

146. Раковотестикулярные антигены – мишени противоопухолевой иммунотерапии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	MAGE, BAGE, NY-ESO-1, GAGE	+
б	KRAS, NRAS	
в	ALK, ROS1	
г	EGFR, VEGFR	

147. iRECIST – модифицированные критерии оценки ответной реакции при солидных опухолях (RECIST редакции 1.1) в исследованиях по изучению действия

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	таргетных препаратов	
б	иммунопрепаратов	+
в	химиопрепаратов	

148. Выделяют следующие прогностические и предиктивные маркёры эффективности иммунотерапии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	лиганды сигнального пути PD-1	+
б	микросателлитная нестабильность MSI	+
в	инфильтрация опухоли лимфоцитами (immunoscore)	+
г	размер первичной опухоли	
д	наличие отдаленных метастазов	

149. Опухоли, отличающиеся высоким уровнем экспрессии PD-L1

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	меланома	+
б	саркома	
в	карцинома тимуса	+
г	рак шейки матки	
д	гепатоцеллюлярная карцинома	
е	трижды негативный РМЖ	+

150. Впервые в мире генотерапия (CAR-T-клеточная терапия) в лечении злокачественных новообразований одобрена для пациентов с

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	лимфомой Ходжкина	
б	хроническим миелолейкозом	
в	острым лимфобластным лейкозом	+
г	саркомой Юинга	

Список литературы

1. Зурочка А. В., Хайдуков С. В., Кудрявцев И. В., Черешнев В. А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. – Екатеринбург: УрОРАН, 2018 – 720 с.
2. Мельникова Е. В., Горяев А. А., Савкина М. В., Меркулова О. В., Чапленко А. А., Рачинская О. А., Семенова И. С., Трусов Г. А., Меркулов В. А. Международный опыт нормативно-правового регулирования препаратов, содержащих жизнеспособные клетки человека // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2018. – Т. 18, № 3. – С. 150-160.
3. Моисеенко В. М., Волков Н. М. История иммунотерапии рака // Практическая онкология. – 2016. – Т. 17, № 2. – С. 53-61.
4. 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.
5. Ткачук В. А. Методические рекомендации по проведению доклинических исследований биомедицинских клеточных продуктов // М.: МГУ им. Ломоносова. – 2017.
6. Эрлих Пауль // Энциклопедический словарь Брокгауза и Ефрона : в 86 т. (82 т. и 4 доп.). – СПб. – 1890–1907.
7. Biganzoli L. Claudino W. M., Pestrin M. et al. Selection of chemotherapeutic drugs in adjuvant programs based on molecular profiles: where do we stand? // Crit Rev. Oncol. Hematol. – 2007. – Vol. 62, № 1. – P. 1-8.
8. Burch P.A. et al. Immunotherapy (APC8015, Provenge) targeting prostatic acid phosphatase can induce durable remission of metastatic androgen-independent prostate cancer: a Phase 2 trial // Prostate. – 2004. – Vol. 60, № 3. – P. 197-204.
9. Burch P.A. et al. Priming tissue-specific cellular immunity in a phase I trial of autologous dendritic cells for prostate cancer // Clin. Cancer Res. – 2000. – Vol. 6, № 6. – P. 2175-2182.
10. Burnet M. Cancer; a biological approach. I. The processes of control // Br. Med. J. – 1957. – Vol. 1, № 5022. – 779-86.
11. Coley W. B. II. Contribution to the Knowledge of Sarcoma // Ann Surg. – 1891. – Vol. 14, № 3. – P. 199-220.
12. Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy // Science. – 2013. – Vol. 342, № 6165. – P. 1432-1433.

13. Dillman R. O. Cancer immunotherapy // *Cancer Biother. Radiopharm.* – 2011. – Vol.26, № 1. – P. 61-64.
14. Handy C. E., Antonarakis E. S. Sipuleucel-T for the treatment of prostate cancer: novel insights and future directions // *Future Oncol.* – 2018. – Vol. 14, № 10. – P. 907-917.
15. Hoffmann J. M., et al. Next-generation dendritic cell-based vaccines for leukemia patients // *Immunotherapy.* – 2017. – Vol. 9. – P. 173-181.
16. Hunig T. T-cell function and specificity in athymic mice // *Immunol Today.* – 1983. – Vol. 4, № 3. – P. 84-91.
17. Jarrossay D. et al. Specialization and complementarity in microbial molecule recognition by human myeloid and plasmacytoid dendritic cells // *Eur. J. Immunol.* – 2001. – Vol. 31. – P. 3388-3398.
18. Katz S. I. Tamaki K., Sachs D. H. Epidermal Langerhans cells are derived from cells originating in bone marrow // *Nature.* – 1979. – Vol. 282. – P. 324-326.
19. Kohlhapp F. J., Zloza A., Kaufman H. L. Talimogene laherparepvec (T-VEC) as cancer immunotherapy // *Drugs Today (Barc).* – 2015. – Vol. 51, № 9. – P. 549-558.
20. Langerhans P. Ueber die Nerven der menschlichen Haut // *Archiv fur pathologische Anatomie und Physiologie, und fur Klinische Medicin.* Berlin. – 1868. – Bd. 44. – P. 325-337.
21. Liu W., Putnam A. L., Xu-Yu Z., Szot G. L., Lee M. R., Zhu S., Gottlieb P. A., Kapranov P., Gingeras T. R., Fazekas de St Groth B., Clayberger C., Soper D. M., Ziegler S. F., Bluestone J. A. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells // *J. Exp. Med.* – 2006. – Vol. 203. – P. 1701-1711.
22. Macri C., et al. Targeting dendritic cells: a promising strategy to improve vaccine effectiveness // *Clin. Transl. Immunology.* – 2016. – Vol. 5. – P. 66.
23. Mahmoud F., Shields B., Makhoul I., Avaritt N., Wong H. K., Hutchins L. F., Shalin S., Tackett A. J. Immune surveillance in melanoma: from immune attack to melanoma escape and even counterattack // *Cancer Biol. Ther.* – 2017. – Vol. 18, № 7. – P. 451-469.
24. Mathew J. P., Taylor B. S., Bader G. D. et al. From bytes to bedside: data integration and computational biology for translational cancer research // *PLoS. Comput. Biol.* – 2007. – Vol. 3, № 2. – P. 12.
25. Raju T. N. Emil Adolf von Behring and serum therapy for diphtheria // *Acta Paediatr.* – 2006. – Vol. 95, № 3. – P. 258-267.
26. Redelman-Sidi G., Glickman M. S., Bochner B. H. The mechanism of action of BCG therapy for bladder cancer – a current perspective // *Nat. Rev. Urol.* – 2014. – Vol. 11, № 3. – P. 153-162.

27. Rosenberg S. A. Cell transfer immunotherapy for metastatic solid cancer. What clinicians need to know // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 8, № 10. – P. 577-585.
28. Saxena M., Bhardwaj N. Re-Emergence of Dendritic Cell Vaccines for Cancer Treatment // *Trends Cancer.* – 2018. – Vol. 4, № 2. – P. 119-137.
29. Sims R. B. Development of sipuleucel-T: autologous cellular immunotherapy for the treatment of metastatic castrate resistant prostate cancer // *Vaccine.* – 2012. – Vol. 30, № 29. – P. 4394-4397.
30. Small E. J. et al. Immunotherapy of hormone-refractory prostate cancer with antigen-loaded dendritic cells // *Journal of Clinical Oncology.* – 2000. – Vol. 18, № 23. – P. 3894-3903.
31. Small E. J. et al. Placebo-Controlled Phase III Trial of Immunologic Therapy with Sipuleucel-T (APC8015) in Patients with Metastatic, Asymptomatic Hormone Refractory Prostate Cancer // *Journal of Clinical Oncology.* – 2006. – Vol. 24, № 19. – P. 3089-3094.
32. Steinman R. M. Cohn Z. A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice // *J. Exp. Med.* – 1973. – Vol. 137. – P. 1142-1162.
33. Stutman O. Tumor development after 3-methylcholanthrene in immunologically deficient athymic-nudemice // *Science.* – 1974. – Vol. 183, № 4124. – P. 534-540.
34. Thaiss C. A., Semmling V., Franken L., Wagner H. and Kurts C. Chemokines: a new dendritic cell signal for T cell activation // *Front. Immun.* – 2011. – Vol. 2. – P. 31.
35. Thomas R., Lipsky P. E. Human peripheral blood dendritic cell subset. Isolation and characterisation of precursor and mature antigenpresenting cells // *J. Immunol.* – 1994. – Vol. 153, № 9. – P. 4016-4028.
36. Web-resource «Wikipedia»: https://en.wikipedia.org/wiki/Cluster_of_differentiation
37. Zaunders J. J., Dyer W. B., Munier M. L., Ip S., Liu J., Amyes E., Rawlinson W., De Rose R., Kent S. J., Sullivan J. S., Cooper D. A., Kelleher A. D. CD127+CCR5+CD38+++ CD4+ Th1 effector cells are an early component of the primary immune response to vaccinia virus and precede development of interleukin-2+ memory CD4+ T cells // *J. Virol.* – 2006. – Vol. 80. – P. 10151-10161.

Балдуева И. А., Нехаева Т. Л., Проценко С. А., Новик А. В.,
Данилова А. Б., Авдонкина Н. А., Пипиа Н. П., Зозуля А. Ю.,
Емельянова Н. В., Кузнецова А. И., Блохина М. Л., Просекина Е. А.,
Скачкова О. В., Гирдюк Д. В., Анохина Е. М.,
Семенова А. И., Латипова Д. Х., Телетаева Г. М., Кулева С. А.,
Семиглазов В. Ф., Новиков С. Н., Рогачев М. В., Беляев А. М.

ДЕНДРИТНОКЛЕТОЧНЫЕ ВАКЦИНЫ В ИММУНОТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ СОЛИДНЫМИ ОПУХОЛЯМИ

Учебное пособие

Издательство «Любавич»
Санкт-Петербург, ул. Менделеевская, 9
Тел.: + 7 (812) 603 25 25

Подписано в печать с оригинал-макета 26.05.2020.
№ 01540.

Отпечатано в ООО «Первый издательско-полиграфический холдинг»,
194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Менделеевская, 9.
Тел.: (812) 603 25 25.
www.lubavich.spb.ru

ISBN 978-5-6042210-8-2



9 785604 221082