

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0803471-0 A2**



(22) Data de Depósito: 18/09/2008
(43) Data da Publicação: 15/06/2010
(RPI 2058)

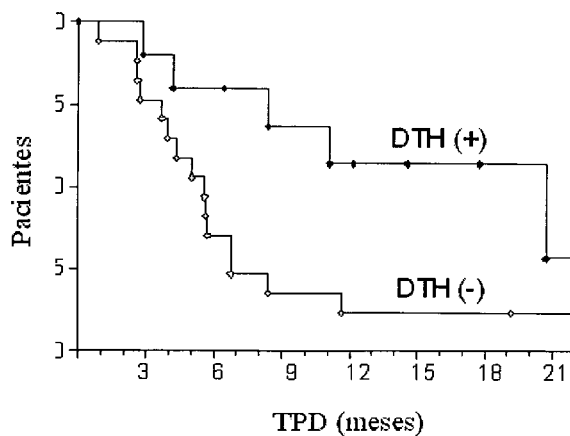
(51) *Int.Cl.:*
A61K 39/00
A61P 35/00

(54) Título: **VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA**

(73) Titular(es): Genoa Biotecnologia S/A

(72) Inventor(es): Juliana Moreira de Sousa Canavez, Kátia Ramos Moreira Leite, Luiz Heraldo Arouche da Câmara Lopes

(57) **Resumo:** Idealizada a fim de ser usada no combate ao melanoma recidivado ou metastático, caracterizada por ser constituída por uma composição compreendendo células apresentadoras de antígeno dendríticas, obtidas de frações concentradas de leucócitos mononucleares que são coletadas de doadores saudáveis, onde as células mononucleares são separadas, sendo lavadas e ressuspensas, onde as células não aderidas (linfócitos) são removidas e as células aderidas (monócitos) são adicionadas a citocinas que induzem a diferenciação de células mononucleares periféricas em células dendríticas, sendo estas pulsadas in vitro e fundidas a células tumorais, cujas células, produto desta fusão, são irradiadas e utilizadas como vacina para aplicação via intradérmica em pacientes com melanoma, com objetivo de indução anti-tumoral do sistema imune.





PI0803471-0

**"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O
TRATAMENTO DE MELANOMA"**

O presente relatório descritivo referente a um pedido de Privilégio de Invenção para **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"** inédita e revolucionária, a qual tem por finalidade ser usada no combate ao melanoma recidivado ou metastático, tratando-se de uma vacina a ser usada por via intradérmica, visando a recuperação da atividade do sistema imune, ou seja, com objetivo de indução anti-tumoral do sistema imune, agregado a ausência de reações adversas significativas, atendendo assim as atuais necessidades e exigências.

Como é sabido, o melanoma é um tipo de câncer de pele de baixa incidência, porém de elevada letalidade. Segundo o INCA (2007) estão previstos 5.920 novos casos em 2008, somente no Brasil. O prognóstico desse tipo de câncer pode ser considerado bom, se detectado nos estádios iniciais. Nos países desenvolvidos, a sobrevida média estimada em cinco anos é de 73%, enquanto que, para os países em desenvolvimento, a sobrevida média é de 56%. A média mundial estimada é de 69%. A cirurgia é o tratamento mais indicado, mas a radioterapia e a quimioterapia também podem ser utilizadas dependendo do estágio do câncer. Quando há metástase, o melanoma é incurável na maioria dos casos.

Protocolos clínicos utilizando células dendríticas (DC) têm sido amplamente explorados para tratamento de diversos tipos de câncer (Mosca et al., 2007; Osada et al., 2006; Gilboa, 2007). Células dendríticas (DC) são potentes apresentadoras de antígeno capazes de induzir resposta imune primária. Têm capacidade de atração e estimulação de células efetoras da imunidade, incluindo células T, B, NKT e NK. Derivam de várias células progenitoras mielóides e linfóides. DC imaturas situam-se no sistema não-linfóide periférico onde capturam e processam antígenos que serão apresentados por moléculas do sistema HLA de classe II. A captura de antígenos associada aos sinais de ativação induz a maturação das DC que

sofrem alterações morfológicas e funcionais, regulando moléculas de adesão co-estimulatórias como CD80, CD86, CD54, CD58 e CD40. Depois de carregadas, migram pelos vasos linfáticos aferentes aos linfonodos, onde interagem com as células T. O primeiro passo é a interação entre o receptor T e o peptídeo apresentado no contexto HLA. O segundo é a expressão e liberação de fatores co-estimulatórios pelas DC que interagem com os receptores específicos das células T. Este processo desencadeia a ativação, expansão e diferenciação de células T (Fujii S et al. 2004).

As estratégias de vacinação são múltiplas, desde a fusão de DC com extratos tumorais totais até a introdução de RNA específicos expressos pelo tumor. Esta abordagem mais específica tem a desvantagem de permitir um escape de populações tumorais que regulem negativamente o antígeno que está servindo como alvo. O uso de extratos totais tem como desvantagem a necessidade de obtenção de células tumorais dos pacientes individuais, limitando as indicações do tratamento. Existem ainda variações nas fontes de DC, grau de maturação, antígenos utilizados, via de administração, número de doses, intervalo entre as mesmas e uso de adjuvantes. Como resultados comuns relatam a indução de resposta imune antígeno-específica e pequenas taxas de resposta.

O melanoma é considerado um modelo para desenvolvimento de vacinas anti-tumorais devido a sua conhecida imunogenicidade. Diversos protocolos clínicos utilizando células dendríticas para tratamento do melanoma foram concluídos ou estão em andamento. Grande parte das estratégias utilizou antígenos expressos neste tipo de neoplasia incluindo MART-1, gp100, gp75, MAG-1, MAG-3, BAGE, GAGE, tirosinase, GM2 and GD2 (Hemmila et al., 1999). Dentre eles, um estudo fase I administrou, via intravenosa, DCs derivadas de pacientes com melanoma pulsadas com os peptídeos tirosinase e gp100 (Lau et al., 2001). Dos 16 pacientes vacinados, um apresentou remissão completa da doença metastática, dois tiveram estabilização da doença e dois apresentaram resposta mista. Em outro estudo, DCs obtidas de precursores CD34+ foram pulsadas com peptídeos derivados de Melan-A/MART-1,

tirosinase, MAGE-3 e gp100, bem como antígenos controle (influenza matrix peptide, Flu-MP, e keyhole limpet hemocyanin, KLH), e administradas via subcutânea em 18 pacientes (Banchereau et al., 2001). Uma resposta imune foi gerada contra os antígenos controle em 16/18 pacientes. Dez dentre esses
5 pacientes exibiram respostas a mais de dois antígenos de melanoma, e 7 tiveram regressão da doença metastática. A sobrevida livre de doença foi em média 7 meses. Acompanhamento dos pacientes realizado em 2005 (Fay et al., 2006), constatou que 4 pacientes ainda estavam vivos, 3 deles sem nenhuma terapia adicional desde o término do estudo. Dois pacientes desenvolveram
10 metástase solitária em linfonodo e um no fígado. A análise mostrou que os pacientes com sobrevida mais longa foram os que desenvolveram imunidade peptídeo-específica a pelo menos dois peptídeos. Mais recentemente, outra estratégia de vacinação utilizando DC e células tumorais autólogas acarretou em resposta clínica objetiva em pacientes com melanoma metastático (estágio
15 IV). Dentre os 46 pacientes analisados, 3 tiveram remissão completa e 3 tiveram resposta clínica parcial (O'Rourke et al, 2007). Adicionalmente, um estudo fase I/II utilizou DCs transfectadas com mRNA tumoral para tratamento de pacientes com melanoma metastático. A vacina se mostrou segura e promoveu resposta de células T em aproximadamente 50% (9/19) dos
20 pacientes avaliados. Nenhum efeito colateral grave foi observado e os percentuais de resposta foram maiores nos pacientes que receberam vacinação intradérmica comparado com a injeção intranodal (Kyte and Gaudernack, 2006).

Os precursores mais comumente utilizados na diferenciação de
25 células dendríticas in vitro são as células mononucleares periféricas. Em geral são isolados monócitos aderentes CD14+ e se transformam em DC, através da adição de fator estimulador de formação de colônias de macrófagos e granulócitos (GM-CSF) e IL-4. Para maturação das DCs se faz necessário a adição de estímulos inflamatórios tais como: lipopolissacarídeo (LPS), fator de
30 necrose tumoral (TNF) e alguns coquetéis mais completos que combinam TNF- α com prostaglandina E₂, IL-1 β e IL-6 (Nestlé FO et al. 2005). As diferenças no

status de maturação têm grande impacto na indução de resposta. Acredita-se que a DC imatura é inferior na indução da resposta imune, principalmente na capacidade estimulatória de células T além da DC madura ter maior capacidade de migração aos órgãos linfóides.

5 Diversos expedientes alternativos foram desenvolvidos buscando contornar tais problemas específicos, sendo todos amplamente utilizados no estado da técnica.

Foi pensando em atender esses requisitos, que após inúmeras pesquisas e resultados de diversos e repetidos estudos, desenvolveu-se o
10 objeto da presente patente, buscando sanar tais problemas e proporcionar uma solução tecnicamente correta e funcional, que em linhas gerais e de forma bem resumida, a **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"** objeto desta invenção, consiste essencialmente em uma composição compreendendo células dendríticas
15 apresentadoras de antígeno, fundidas a células tumorais para aplicação em pacientes com melanoma recidivado ou metastático, com objetivo de indução anti-tumoral do sistema imune, a ser aplicada por via intradérmica, desenvolvida de forma prática e com baixo custo de exeqüibilidade industrial, porém aliados aos requisitos segurança e praticidade utilitária.

20 Um dos principais objetivos do desenvolvimento da presente invenção é obter uma vacina eficaz visando a recuperação da atividade do sistema imune do paciente portador de melanoma, seja ele recidivado ou metastático, com ausência de reações adversas significativas.

Um outro objetivo da presente invenção é a obtenção de uma
25 vacina para o tratamento de melanoma que promova em sua grade maioria dos pacientes por ela tratados, a melhora ou a estabilização da doença.

Constitui-se, portanto, a presente Patente de Invenção
"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA", no intuito de atingir os objetivos acima
30 mencionados e de oferecer grande confiabilidade, visando deste modo a obtenção de uma vacina de características funcionais verdadeiramente

inovadoras e de grande desempenho, proporcionando grandes melhorias, promovendo-se e personalizando-se por ser totalmente distinta do estado da técnica .

Contudo para melhor entender e elucidar segue uma descrição
5 detalhada da presente Patente de Invenção **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"**, sendo que:

O nosso grupo tratou 13 pacientes portadores melanoma metastático em fase de progressão. Doses de vacinas híbridas de células
10 tumorais totais-células dendríticas foram aplicadas a cada seis semanas, por via intradérmica. De 11 pacientes que receberam duas doses ou mais, demonstramos 72,7% de estabilização de doença (8/11) com mediana de 5,6 meses de tempo livre de progressão. Três pacientes apresentaram progressão da doença e nenhum apresentou resposta objetiva. A recuperação da atividade
15 do sistema imune, apesar de variável, aconteceu em todos os pacientes, com ausência de reações adversas significativas.

"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA", ora pleiteada, constitui-se através das seguintes etapas e metodologias usadas:

20 1 - Cultura de células dendríticas.

Frações concentradas de leucócitos mononucleares foram coletadas de doadores saudáveis por aférese realizada no Cobe Spectra Blood Cell Separator 7.0 (Cobe, Lakewood, CO, USA), após consentimento informado do doador. As células mononucleares foram separadas por centrifugação em
25 gradiente de densidade (Ficoll-Paque 1,077 g/dl), lavadas três vezes com meio RPMI 1640 (mistura de sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outro componentes essenciais para o crescimento celular) e ressuspensas em AIM-V (reagente para extração de DNA genômico) numa densidade de $1,3 \times 10^7$ cel/mL. Após 2 h de incubação a 37°C numa atmosfera úmida contendo 5% de CO₂, as
30 células não aderidas (linfócitos) foram removidas. As células aderidas (monócitos) foram adicionadas as citocinas GM-CSF(fator estimulador de

colônia granulócito macrófago) e IL-4, na concentração final de 50 ng/mL, ou outra citocina qualquer que induza a diferenciação de células mononucleares periféricas em células dendríticas. Após 5 dias de cultivo a 37°C foi adicionado TNF- α (50ng/mL) para maturação das DC. Após o 7º dia de cultivo as células
5 foram recuperadas e utilizadas para preparação da vacina.

2 - Testes de hipersensibilidade tardia

Os pacientes submetidos a este protocolo de vacinação foram avaliados imunologicamente, quanto à sua resposta imune celular antes e durante o tratamento. Testes cutâneos de hipersensibilidade tardia a uma
10 bateria de antígenos padrão (*PPD, candidina, histoplasmina, tricoftina*) foram realizados antes do tratamento, e após 12 semanas da primeira dose. Os diâmetros de eritema e induração foram registrados.

3 - Resposta linfocitária ao tumor in vitro

Para avaliação da resposta proliferativa ao tumor, sangue foi
15 coletado dos pacientes antes de cada vacinação. As PBMC foram separadas em gradiente de densidade de Ficoll e utilizados em reações mistas de linfócitos contra DCs, células tumorais autólogas, misturas contendo DC e tumor e células híbridas dendríticas-tumorais. Células foram cultivadas por 5 dias em meio RPMI-1640 enriquecido com 10% de SFB, em estufa controlada a 37°C e 5% de
20 CO₂. A resposta proliferativa foi avaliada através da redução de MTT.

4 - Preparação da suspensão de células tumorais

Fragmentos tumorais foram obtidos em condições estéreis logo após a ressecção tumoral. Estes fragmentos foram colocados imediatamente em meio de cultura estéril (RPMI-1640), contendo antibióticos e antimicóticos,
25 e transportados ao laboratório. No laboratório os espécimes tumorais foram fragmentados, com uso de bisturi, em fragmentos de, no máximo, 1 mm³. E estes, então, submetidos à digestão por collagenase (tipo VIII, 0,56 mg/mL) e DNase (tipo IV, 0,026 mg/mL) em 10 mL de meio RPMI-1640 por grama de tecido (a 37º C). As suspensões celulares, assim obtidas, foram filtradas em
30 gaze para remoção dos restos teciduais e lavadas com RPMI-1640 por centrifugação (150g/10 min/4°C). As células viáveis foram quantificadas por

exclusão em azul de tripan, ressuspensas em meio de congelamento (60% de RPMI 1640, 30% de SFB e 10% de DMSO) e armazenadas em nitrogênio líquido até a hora do uso.

5 - Avaliação da eficiência de geração de DC

5 Para avaliação fenotípica das DCs, as células foram marcadas com anticorpos monoclonais comerciais contra os seguintes marcadores: HLA-ABC, HLA-DR, CD1a, CD14, CD80, CD86 e CD83, e analisadas em citômetro de fluxo FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). No mínimo 10.000 eventos por anticorpo foram adquiridos e analisados com o software CellQuest
10 (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA).

6 - Preparação de células híbridas para vacinação

Células tumorais e dendríticas, obtidas como acima descrito, foram lavadas e ressuspensas numa solução de glicose 5% para concentração de 1×10^7 /mL. Volumes iguais das duas suspensões celulares
15 foram misturados e transferidos para cubeta de eletroporação, previamente, preparada pela aplicação, em uma de suas faces de uma gota de cera dielétrica. A seguir, as células foram submetidas a um pulso elétrico de 1.000 V/cm, gerados por um eletroporador Gene-Pulser II (Biorad, Richmond, CA, USA), a partir de um capacitor de 25 μ F. As células, produto desta fusão, foram
20 irradiadas (200 Gy) e utilizadas como vacina, sem outros procedimentos de purificação.

A eficácia da fusão variou entre 15-30% conforme testes pilotos utilizando marcadores fluorescentes para tumor e DC (CellTracker green and red; Molecular Probes, Invitrogen). Os híbridos apresentando dupla marcação
25 foram quantificados em citômetro de fluxo.

7 - Protocolo de vacinação

Os pacientes receberam as doses por via intradérmica no antebraço. O intervalo entre as vacinações foi de 6 semanas. Para acompanhamento dos pacientes, exames clínicos e de imagem foram realizados
30 antes do início do tratamento e no 6º após a 1ª dose da vacina. Dentre eles, ressonância magnética do cérebro, tomografia de tórax, abdômen, pelve, entre

outros foram utilizados para buscar recidiva ou metástases. Após estas duas primeiras avaliações, os pacientes foram clinicamente monitorados mensalmente e os exames de imagem repetidos semestralmente.

8 - Avaliação da resposta e toxicidade

5 Progressão da doença foi definida como 25% de aumento das lesões mensuráveis e/ou aparecimento de novas lesões, doença estável considerou lesões mensuráveis com redução menor que 50% ou menos que 25% de aumento das suas dimensões. Decréscimo de 50% foi classificado como resposta parcial e desaparecimento completo da lesão como, resposta
10 clínica completa. A toxicidade ao tratamento foi avaliada conforme os critérios do Instituto de Câncer dos Estados Unidos (National Cancer Institute Toxicity Criteria).

Resultados obtidos

15 As vacinas foram usadas inicialmente no tratamento de 13 pacientes portadores de melanoma. Os resultados mostraram ausência de reações adversas significativas após aplicação da vacina (cada paciente recebeu um número médio de 4,7 doses). Observou-se também que 72,7% (8/11) dos pacientes apresentaram estabilização da doença igual ou superior a 3 meses, após duas doses da vacina. O tempo médio de estabilização da doença foi de
20 5,6 meses.

Segue tabela referente a avaliação da resposta clínica após vacinação com células híbridas dendríticas-tumorais.

Avaliação Clínica	Duração da resposta (meses)
Resposta objetiva (n=0)	-
Doença estável (n=8)	11,1 (4-17)
Progressão da doença (n=3)	2,6 (2,3-2,7)

A resposta imunológica dos pacientes tratados com a vacina foi estudada antes e durante o tratamento através de testes cutâneos de
25 hipersensibilidade tardia a uma bateria de antígenos padrão (PPD, candidina, histoplasmina, tricoftina) e avaliação da resposta proliferativa de linfócitos estimulada pelo tumor antes de cada vacinação.

Contudo para melhor entender e elucidar a descrição detalhada são apresentados em anexo os gráficos ilustrativos, de modo que:

- A Figura 1: Evolução da resposta linfocitária ao longo da vacinação.
- 5 - A Figura 2: Relação da presença de hipersensibilidade tardia (DTH) com o tempo de progressão da doença (TPD).

Conforme apresentado na Figura 1, células mononucleares foram isoladas do sangue periférico e coletadas antes de cada vacinação. A
10 estimulação dos linfócitos em resposta a incubação com o tumor foi calculada com base na redução de MTT. A vacina promoveu uma recuperação imunológica dos pacientes uma vez que o reconhecimento do tumor pelos linfócitos aumentou com o número de doses recebidas.

Conforme apresentado na Figura 2, pacientes foram
15 submetidos a um teste contendo três antígenos (PPD, candidina e tricotina) antes e após duas doses da vacina com células híbridas. Pacientes positivos a ao menos um antígeno antes da vacinação apresentaram tempos para progressão da doença mais longos.

Em continuação ao estudo avaliamos 18 pacientes com
20 melanoma através de questionários de qualidade de vida durante o tratamento com a vacina. Análise dos dados mostrou que 6,6% dos pacientes apresentaram progressão da doença e deterioração clínica, 6,6% melhoraram e 86.6% tiveram estabilização da doença.

Tratou-se no presente relatório descritivo de uma nova
25 concepção em **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"**, apresentando conforme podemos evidenciar, pela análise realizada e pelas figuras mostradas, inúmeras vantagens em função das diferenças sobre os métodos convencionais existentes e utilizados, além de características técnicas construtivas e funcionais
30 completamente novas perante o estado da técnica.

Tendo, portanto, sido descrita e ilustrada a melhor forma de

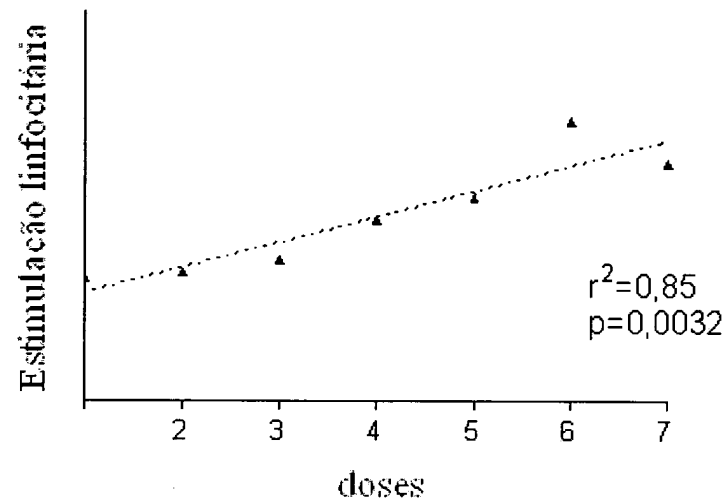
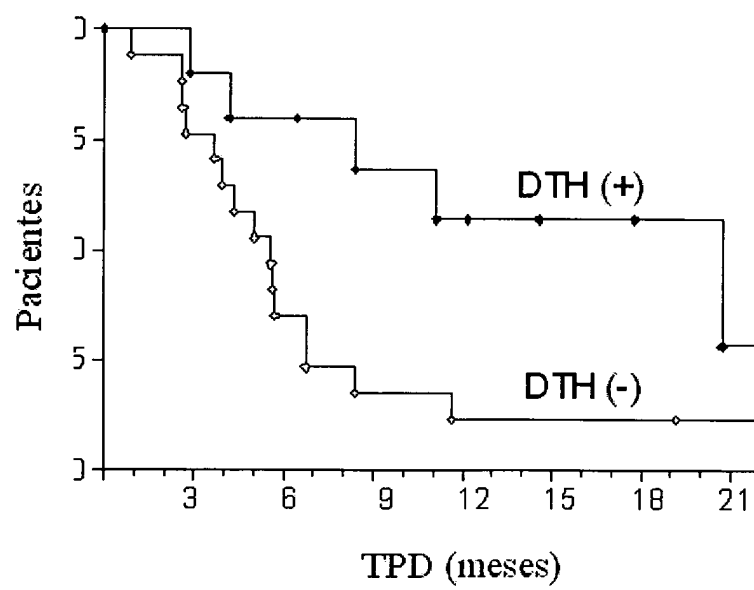
realização atualmente contemplada para a concretização da presente invenção, inúmeras modificações e variações em sua forma de realização, poderão ser prontamente introduzidas por aqueles versados na técnica. No entanto, é para ser compreendido que, a presente invenção não está limitada aos aspectos
5 práticos da realização atualmente preferida ilustrada e descrita, e que todas e tais modificações e variações devem ser consideradas como estando englobadas dentro do espírito e escopo da invenção.

Pelas vantagens que oferece e ainda por revestir-se de características técnicas verdadeiramente inovadoras, preenchem todos os
10 requisitos de originalidade e novidade no gênero, reunindo assim condições necessárias para merecer o Privilégio de Invenção.

REIVINDICAÇÃO

- 1 - **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"**, caracterizada por ser constituída por uma composição compreendendo células apresentadoras de antígeno, fundidas a células tumorais para aplicação em pacientes com melanoma recidivado ou metastático, com objetivo de indução anti-tumoral do sistema imune, a ser aplicada por via intradérmica.
- 2 - **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ser constituída por células apresentadoras de antígeno as quais são células dendríticas.
- 3 - **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ser constituída por células apresentadoras de antígeno que foram pulsadas in vitro com células tumorais e fundidas as mesmas, cujas células obtidas são irradiadas e utilizadas como vacina para aplicação via intradérmica em pacientes com melanoma.
- 4 - **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ser constituída pela cultura de células dendríticas, em que frações concentradas de leucócitos mononucleares são coletadas de doadores saudáveis por aférese, onde as células mononucleares são separadas por centrifugação em gradiente de densidade, sendo lavadas com meio RPMI 1640 (mistura de sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outro componentes essenciais para o crescimento celular) e ressuspensas em AIM-V (reagente para extração de DNA genômico), onde as células não aderidas (linfócitos) foram removidas e as células aderidas(monócitos) foram adicionadas as citocinas GM-CSF(fator estimulador de colônia granulócito macrófago) e IL-4, ou outra citocina qualquer que induza a diferenciação de células mononucleares periféricas em células dendríticas.

- 5 - **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ser constituída por uma composição onde a resposta imunológica compreenda células T, TRT-anticorpo específica e TRT-citotóxica específica.
- 6 - **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ser constituída uma composição que promove a imunidade T em um indivíduo contra alvos tumorais específicos.
- 7 - **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"**, de acordo com as reivindicações 1 e 4, caracterizada por ser constituída por uma composição onde seu método de preparação compreenda o isolamento de leucócitos mononucleares do sangue periférico, posteriormente submetidos a cultura e citocinas para diferenciação.
- 8 - **"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA"**, de acordo com as reivindicações 1, 4 e 6, caracterizada por ser constituída por uma composição cuja célula apresentadora de antígeno é dendrítica e é pulsada ex-vivo com células tumorais.

FIG.1**FIG. 2**

RESUMO

"VACINA DE CÉLULAS HÍBRIDAS DENDRÍTICAS-TUMORAIS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA", idealizada a fim de ser usada no combate ao melanoma recidivado ou metastático, caracterizada por ser constituída por

5 uma composição compreendendo células apresentadoras de antígeno dendríticas, obtidas de frações concentradas de leucócitos mononucleares que são coletadas de doadores saudáveis, onde as células mononucleares são separadas, sendo lavadas e ressuspensas, onde as células não aderidas (linfócitos) são removidas e as células aderidas(monócitos) são adicionadas a

10 citocinas que induzem a diferenciação de células mononucleares periféricas em células dendríticas, sendo estas pulsadas in vitro e fundidas a células tumorais, cujas células, produto desta fusão, são irradiadas e utilizadas como vacina para aplicação via intradérmica em pacientes com melanoma, com objetivo de indução anti-tumoral do sistema imune.