



УКРАЇНА

(19) UA (11) 16552 (13) U
(51) МПК (2006)
A61K 38/01
A61K 38/17
A61K 35/12
A61D 7/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ІМУНІЗАЦІЇ ГЛІКОПЕПТИДНОЮ ПРОТИПУХЛИННОЮ АВТОВАКЦИНОЮ

1

2

(21) u200601520

(22) 14.02.2006

(24) 15.08.2006

(46) 15.08.2006, Бюл. № 8, 2006 р.

(72) Олішевський Сергій Валерійович, Мазур Ольга Вікторівна, Шляховенко Володимир Олексійович, Главацький Олександр Якович

(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛО-

ГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ

(57) Спосіб імунізації протираковинною глікопептидною автовакциною, при якому триразово вводять автовакцину, який **відрізняється** тим, що автовакцину вводять внутрішньопухлинно чи перипухлинно.

Спосіб, що заявляється, належить до галузі медицини, а саме до онкології і стосується розробки підходів підвищення ефективності протираковинних засобів.

На сучасному етапі накопичені численні дані експериментальних досліджень та клінічних випробувань щодо ефективності профілактики рецидивів і метастазів злоякісних новоутворень шляхом вакцинації, зокрема, відзначені позитивні результати застосування аутологічних вакцин у лікуванні хворих на колоректальний рак, рак нирки, легені, шлунка тощо [1-4].

Проте, аналіз сучасних даних стосовно застосування в онкологічній практиці протираковинних вакцин свідчить про необхідність підвищення їх ефективності за допомогою інших імунотерапевтичних засобів та підходів [1, 4-5].

Відомо, що різноманітні протираковинні вакцини діють значно ефективніше при використанні їх поєднано з ад'ювантами різного походження (наприклад, БЦЖ, продукти мікробного походження, цитокіни, ліпосоми) [1, 6, 8, 9]. Окрім цього, велике значення для ефективності вакцинотерапії має доза, режим та спосіб введення як вакцини, так і ад'юванта.

Найближчим аналогом до способу, що заявляється, є спосіб імунізації, який полягає у тому, що імунізацію проводили шляхом підшкірного введення глікопептидної протираковинної автовакцини, виготовленої шляхом контрольованого ферментативного гідролізу з наступним хроматографічним

фракціонуванням [6]. Дослідження проводили на моделі солідної форми карциноми Ерліха (КЕ) у мишей лінії BALB/c віком 8-9 тижнів. Курс імунізації складався з 3 ін'єкцій, разова доза глікопептидної автовакцини складала 25.000 екв./клітин, сумарна доза - 75.000 екв./клітин/тварину. Глікопептидну протираковинну автовакцину, виготовлену за способом [7] вводили підшкірно на 2-у, 9-у та 16-у добу після перещеплення пухлини.

Результати проведених досліджень свідчать про незначну ефективність застосування глікопептидної автовакцини, що полягала у деякому гальмуванні росту пухлини та зростанні середньої тривалості життя тварин-пухлиноносіїв. Але відомий спосіб імунізації глікопептидною протираковинною автовакциною виявився не досить ефективним.

В основу корисної моделі, що заявляється, поставлена задача вдосконалити спосіб імунізації глікопептидною протираковинною автовакциною завдяки її локальному введенню, що дозволяє забезпечити підвищення імуногенності автовакцини, підсилити протираковинну резистентність організму і таким чином досягти значно вищої ефективності імунізації.

Поставлена задача була вирішена завдяки тому, що під час імунізації глікопептидну протираковинну автовакцину вводили внутрішньо- чи перипухлинно.

Суть способу полягає в тому, що імунізацію глікопептидною автовакциною проводять шляхом 3-разового внутрішньо- чи перипухлинного її вве-

(19) UA (11) 16552 (13) U

дення.

Саме такі способи введення вакцини дозволяють проявити її максимальну протипухлинну дію. Сукупність експериментальних досліджень та клінічних випробувань дала основу для використання саме внутрішньо- та перипухлинного способів імунізації глікопептидною автовакциною з метою підвищення її ефективності.

Ефективність імунізації досліджували *in vivo* на моделях солідної форми карциноми Ерліха та гліоми 101.8. Ефективність лікування визначали за показниками гальмування росту пухлини, яке оцінювали за об'ємом первинного пухлинного вузла та вираховували індекс гальмування росту пухлини за наступною формулою:

$$Г, \% = (Ак - Ад) : Ак \times 100\%,$$

де Ак - середній об'єм первинного пухлинного вузла в контрольній групі (мм³). Ад - середній об'єм первинного пухлинного вузла в дослідній групі (мм³).

Середню тривалість життя (СТЖ) розраховували на основі даних про виживання всіх тварин в групі. Збільшення тривалості життя тварин-пухлиноносіїв (у %) вираховували за формулою:

$$ЗТЖ = (СТЖд - СТЖк) : СТЖк \times 100\%,$$

де СТЖд - середня тривалість життя тварин в дослідній групі (дів),

СТЖк - середня тривалість життя тварин в контрольній групі (дів).

Суть способу підвищення ефективності імуні-

зації глікопептидною протипухлинною автовакциною, що заявляється, пояснюють приклади конкретного виконання.

Приклад 1

Імунізацію глікопептидною протипухлинною автовакциною проводили на моделі солідної форми КЕ. Ця модель характеризується практично стовідсотковою перещеплюваністю, високою швидкістю росту, чутливістю до широкого спектру протипухлинних препаратів та високою відтворюваністю отриманих результатів [10, 11]. На 2-у добу після прищеплення пухлини тваринам триразове вводили глікопептидну автовакцину в дозі 25.000 екв.клітин внутрішньо- і перипухлинним способами. У кожній експериментальній групі було по 10 мишей-самців лінії BALB/c, віком 8-9 тижнів, масою 18-20г. Тваринам підшкірно прищеплювали по 2,5-3 × 10⁵ живих клітин КЕ/тварину. Тваринам контрольної групи вводили ізотонічний розчин.

Слід зазначити, що у тварин, яким вводили внутрішньопухлинно глікопептидну автовакцину, спостерігалася регресія чи ремісія пухлинного процесу. Пухлина характеризувалася чіткими контурами та появою вогнищ некрозу, зростала середня тривалість та якість життя тварин-пухлиноносіїв.

Результати застосування глікопептидної протипухлинної автовакцини, введеної різними способами, представлені в табл. 1 та на Фіг.1, 2.

Таблиця 1

Ефективність імунізації в залежності від способу введення глікопептидної протипухлинної автовакцини мишам з перещепленою солідною формою КЕ

№ дослідю	Спосіб введення глікопептидної автовакцини	Показники ефективності вакцинотерапії		
		Г, %	СТЖ, дів	ЗТЖ, %
I	підшкірно	Н.в.	81,7±3,2	12,7
	контроль	—	72,5±2,5	—
II	внутрішньопухлинно	37,3	52,6±8,0	89,9
	перипухлинно	81,0	57,4±4,0	107,2
	контроль	—	27,7±6,0	—

Примітка: Н.в. - не визначали

Дані табл. 2 демонструють, що порівняно з підшкірним способом імунізації при внутрішньо- та перипухлинному способах імунізації глікопептидною автовакциною спостерігається збільшення тривалості життя тварин-пухлиноносіїв в 8,4 та 7 разів відповідно.

Приклад 2

Імунізацію глікопептидною протипухлинною автовакциною проводили на моделі гліоми 101.8 у щурів лінії Вістар. Перещеплення пухлини проводили інтрацеребрально, в ліву скроневотім'яну

ділянку, під загальним знеболенням, з розрахунку 2,5-3 × 10⁵ живих пухлинних клітин/тварину. Глікопептидну автовакцину вводили в дозі 50.000 екв.клітин підшкірно та внутрішньопухлинно (інтрацеребрально) триразово з інтервалом в 1 тиждень.

Результати ефективності застосування глікопептидної протипухлинної автовакцини у щурів з гліомою 101.8 представлені у табл. 2.

Таблица 2

Ефективність імунізації глікопептидною протипухлинною автовакциною у щурів з перещепленою гліомою 101.8.

Група	Спосіб введення	Г, %	СТЖ, діб
I	підшкірно	8,5	38±2,3
II	внутрішньопухлинно	14,6	41±3,1
III	контроль підшкірно	-	35±2,5
IV	контроль внутрішньопухлинно	-	35±2,7

Дані табл. 2 демонструють підвищення ефективності імунізації глікопептидною протипухлинною автовакциною в 1,7 рази при внутрішньопухлинному способі її введення.

Слід зазначити, що злоякісні пухлини головного мозку мають надзвичайно злоякісний перебіг, тривалість життя пухлиноносіїв значно коротша, ніж у тварин з іншою локалізацією пухлинного процесу. Виходячи з цього, продовження життя піддослідних тварин навіть на декілька днів має досить суттєве значення.

Таким чином, доведена можливість підвищувати протипухлинну дію вакцини за допомогою внутрішньопухлинного та перипухлинного способів її введення, що дозволяє вважати ці способи імунізації перспективними для подальшого застосування при вакцинотерапії хворих із злоякісними новоутвореннями. Що стосується злоякісних пухлин головного мозку, даний спосіб застосування можливий в клінічній практиці за допомогою резервуару Оттауа, який встановлюється під час операції.

Отже, дані способи введення препарату у випадку оригінальної глікопептидної протипухлинної аутовакцини використані вперше і дозволили значно підвищити ефективність імунізації порівняно з традиційним підшкірним способом введення.

Спосіб імунізації глікопептидною протипухлинною автовакциною високоефективний, простий у виконанні, не дає побічних впливів і його можна буде широко застосовувати в клінічній практиці для підвищення ефективності лікування прооперованих хворих з метою профілактики рецидивів та метастазів, подовження тривалості та покращення якості життя пацієнтів.

Використані літературні джерела:

1. Барышников А.Ю. Противоопухолевые вакцины // Тезисы Всерос. научн.-практ. конф. - Москва, - 2002. - С. 12.
2. Потебня Г.П., Лисовенко Г.С., З.Д. Савцова,

Черный В.А. и соавт. Противоопухолевые вакцины: перспективы применения в клинической онкологии. // Онкология, - 2004. - Т.6, №3. - С. 167-74.

3. Моисеенко В.М. Возможности вакцинотерапии меланомы кожи // Практическая онкол. - 2001. - Т. 4, №8. - С. 58-64.

4. Шляховенко В.А. Современные подходы к созданию противоопухолевых вакцин // Эксперим. онкол. - 2000. - Т. 22, №3. - С. 99-109.

5. Шляховенко В.О., Потебня Г.П., Мосієнко В.С. та ін. Нова технологія розробки полівалентних протипухлинних автовакцин. – В кн.: Шляхи та перспективи розвитку експериментальної онкології в Україні. - Київ, ДІА, 2001. - С. 115 - 22.

6. Shiyakhovenko V.A., Olishevsky S.V., Kozak V.V., Yanish Y.V., Rybaiko S.L. Anticancer and immunostimulatory effects of nucleoprotein fraction of Bacillus subtilis 7025 culture medium filtrate // Exp. Oncol. - 2003. - 25. - P. 119-23.

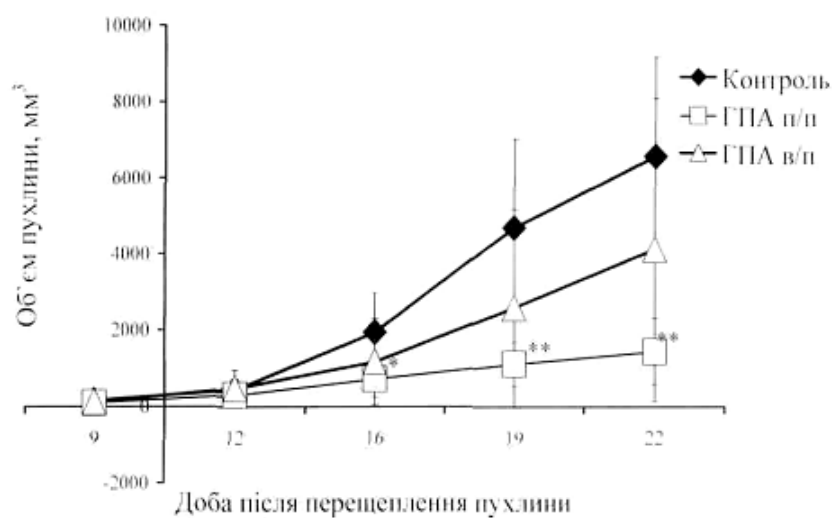
7. Патент А61К38/01, №57608 Україна «Спосіб одержання протипухлинної автовакцини» Шляховенко В.О., Потебня Г.П., Мосієнко В.С., Козак В.В., Загоруйко Л.І., Яніш Ю.В., Миліневська В.О., Чехун В.Ф. №2000020797; заявл. 14.02.2000; опубл. 16.06.2003, бюл. №6.

8. Затула Д.Г. Микроорганизмы, рак и противоопухолевый иммунитет. - Київ: Наукова думка, - 1985. - 245 с.

9. Лисяный Н.И., Гнедкова И.А., Главацкий А.Я. и др. Иммунология глиом головного мозга и проблемы иммунотерапии // Эксперим. онкол. - 2000. - Т. 22. - С. 321.

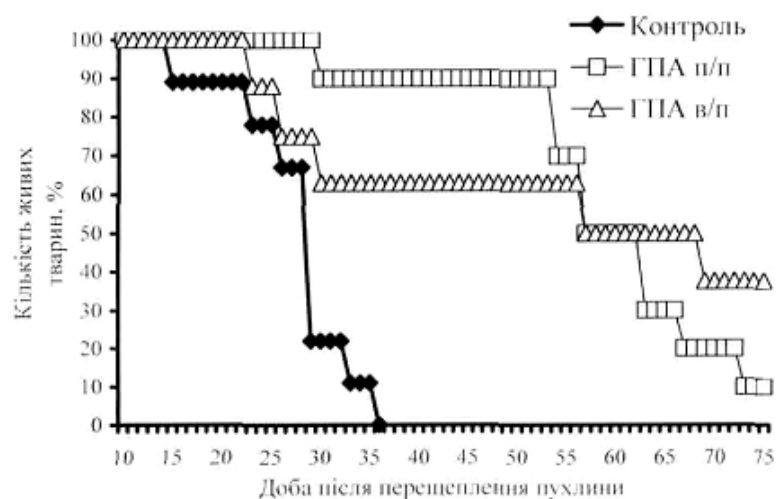
10. Софьина З.П., Сыркин А.Б., Голдин А., Кляйн А. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. - Москва: Медицина, - 1980 - 294 с.

11. Трещалина Е.М. Противоопухолевая активность веществ природного происхождения. - Москва: Практическая медицина, - 2005. - 270 с.



* $p<0.05$; ** $p<0.01$ відносно контрольного значення

Фиг. 1



Фиг. 2