



УКРАЇНА

(19) UA (11) 56828 (13) U
(51) МПК (2011.01)
A61K 35/66
A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН

1

(21) u201009186

(22) 21.07.2010

(24) 25.01.2011

(46) 25.01.2011, Бюл.№ 2, 2011 р.

(72) ГАМАЛІЯ МИКОЛА ФЕДОРОВИЧ, ЛІСНЯК
ІВАН ОЛЕКСІЙОВИЧ, ШИШКО ЄВГЕНІЯ ДЕНИСИ-
ВНА, ПРОКОПЕНКО ІГОР ВІКТОРОВИЧ, МАМЧУР
АНАТОЛІЙ АНАТОЛІЙОВИЧ

(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛО-
ГІЇ, ОНКОЛОГІЇ ТА РАДІОБІОЛОГІЇ ІМ. Р.Є. КАВЕ-

2

ЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇ-
НИ

(57) Спосіб фотодинамічної терапії злоякісних пу-
хлин, який **відрізняється** тим, що введення в ор-
ганізм з пухлиною пухлинотропних фотосенсибілі-
зуючих сполук (гематопорфірин) проводять у
формі їх комплексів з антитілами до ангіогенних
факторів і світлове (лазерне) опромінення пухлин
здійснюють в часові точки доби, вибрані з ураху-
ванням циркадіанних коливань у перебігу процесів
ангіогенезу.

Корисна модель, що заявляється, належить до
медицини, зокрема онкології.

В арсеналі протипухлинних засобів метод фо-
тодинамічної терапії (ФДТ) займає об'єктивно ви-
правдане місце у зв'язку з його малою інвазивністю
та можливістю отримання найбільш
селективного ураження пухлинної тканини.

Спосіб здійснення ФДТ пухлин, обраний як по-
казник рівня техніки і водночас як прототип [1],
полягає у введенні в організм з пухлиною пухлино-
тропних фотосенсибілізаторів, наприклад гемато-
порфірин, які можуть накопичуватися в злоякісних
клітинах, робити їх світлочутливими, зумовлюючи
цим самим вибіркоче руйнування малігнізованих
клітин при послідовному опроміненні. Селектив-
ність пошкодження пухлин при цьому пояснюється
перш за все тим, що фотосенсибілізатор здатний
більше накопичуватися та довше затримуватися в
пухлині порівняно з нормальними тканинами [2].

Недоліки цього способу такі:

1. Суттєвим обмеженням є недостатня селек-
тивність накопичення фотосенсибілізатору саме в
пухлинній тканині, що може обернутись системною
фототоксичністю для організму хворого. Як наслідок,
можуть виникнути пошкодження значних ділянок
прилеглих до пухлини тканин під час опромінення,
оскільки вони теж можуть бути частково
опромінені. Крім того, введення фотосенсибіліза-
тору в організм хворого може спричинити значний
фототоксичний ефект на шкіру. Тому пацієнти по-

винні уникати сонячного світла на протязі декіль-
кох тижнів після сеансу ФДТ.

2. Традиційний спосіб проведення ФДТ потре-
бує високих доз фотосенсибілізуючих агентів.

Саме ці недоліки проведення ФДТ пухлин об-
межують можливості її використання для лікуван-
ня онкологічних захворювань.

В основу корисної моделі поставлено задачу:
позбутися цих недоліків способу проведення ФДТ
пухлин і, таким чином, підвищити її ефективність
щодо руйнування злоякісних пухлин.

Поставлена задача вирішується тим, що задля
підвищення ефективності ФДТ пухлин виконують-
ся дві нові умови її проведення, а саме:

по-перше: замість традиційних фотосенсибілі-
заторів, використовують їх кон'югати з антитілами,
наприклад з антитілами до фактору росту ендоте-
ліальних клітин (VEGF);

по-друге: в організм з пухлиною вводять ангіо-
генезо-спрямовані кон'юговані фотосенсибілізато-
ри у період підвищеної концентрації VEGF та ре-
цепторів до нього у пухлинній тканині і проводять
ФДТ пухлин, орієнтовану на циркадіанні коливання
процесів ангіогенезу в них.

Використання кон'югату з антитілами [3-6] до
VEGF дозволяє забезпечити спрямовану селектив-
ну "досилку" цих кон'югованих фотосенсибіліза-
торів безпосередньо в ангіогенно активну крово-
носну мережу пухлини та спрямовувати
фотодинамічну дію на новоутворювані судини пу-
хлин через ангіогенно активовані ендотеліальні

(13) U

(11) 56828

(19) UA

клітини, які беруть безпосередню участь у формуванні зон неоваскуляризації при розвитку пухлини, подальшому її рості та метастазуванні. Преферентність ендотеліальних клітин як мішеней для впливу на пухлину визначається експресією на їх поверхні рецепторів до цитокінів ангіогенезу, зокрема VEGF. Використання такого варіанту ФДТ здатне підвищити фотодинамічний протипухлинний ефект при зниженні доз введених фотосенсибілізаторів та зменшити рівень їх токсичності.

Враховуючи ритмічний характер секреції пухлинами VEGF на протязі доби [7, 8], на ФДТ переносять принципи лікарської хронотерапії раку, які полягають у врахуванні біоритмічних (добових) коливань чутливості клітин до протипухлинних хіміопрепаратів, що відкриває можливість підвищити ефективність фотосенсибілізації пухлин за рахунок введення ангіогенезо-спрямованих кон'югованих фотосенсибілізаторів у період підвищеної концентрації VEGF тканини та проводять ФДТ пухлин, орієнтовану на циркадіанні коливання процесів ангіогенезу в них.

Приклади практичного застосування корисної моделі

Враховуючи дані стосовно добових коливань вмісту VEGF та накопичення імунокон'югату в пухлинах мишей (карциноми Льюїс та саркоми 180), проведено ФДТ мишей з цими пухлинами, використовуючи кон'югат гематопорфірин-антиVEGF.

Перед початком експерименту тварин витримували два тижні у темряві для встановлення вільноперемірюваного добового ритму. За цей термін миші мали перейти на генетично притаманний їм циркадіанний ритм.

Для дослідів з ритмоорієнтованої ФДТ саркому 180 перещеплювали мишам підшкірно, карциному Льюїс - в подушечку лапки. Після перещеплення пухлин мишей переводили на світловий режим 12 год. світло: 12 год. темрява (світло від 8.00 до 20.00, темрява - від 20.00 до 8.00). На такому світловому режимі миші перебували до кінця експерименту.

При досягненні пухлинами діаметру 0,5-0,7 см (карцинома Льюїс) або 1,0 см (саркома 180) тваринам вводили кон'югований з антитілами або вихідний фотосенсибілізатор у дозі 0,05 мг на мишу (за гематопорфірином). Препарати вводили внутрішньоочередно в час максимального (о 14.00 год.) або мінімального (о 2.00 год.) вмісту VEGF в пухлинах. Світлове опромінення проводили через добу в ті ж часові точки, тобто о 14.00 або о 2.00 год.

Використовували червоне ($\lambda=635\text{nm}$) випромінювання лазера на напівпровідниках (ВО «Фотоніка плюс», Черкаси, Україна) в дозі 30 Дж/см² при вихідній потужності 30 мВт та щільності потужності 26 мВт/см². Обирали дозу лазерного опромінення з таким розрахунком, щоб не спричинити повного гальмування росту пухлин і мати можливість спостерігати динаміку його пригнічення. Раніше нами було встановлено, що при ФДТ з досліджуваним імунокон'югатом при дозі лазерного опромінення 30 Дж/см² зворотного розвитку зазнають пухлини діаметром до 8 мм. Пухлини більшого розміру продовжують рости, хоч і повільніше порівняно з кон-

тролем. Неповне гальмування і продовження росту таких пухлин пояснюється очевидно обмеженням проникненням червоного світла в глибину пухлинної тканини.

Результати проведеної терапії оцінювали за показниками ваги видалених пухлин (карцинома Льюїс) або їх об'єму (саркома 180), якій визначали на 2-у, 9-у та 12-у добу експерименту.

На Фіг.1 наведені результати ФДТ карциноми Льюїс, орієнтованої на циркадіанні коливання процесів ангіогенезу в ній. Пухлини, які опромінювались на максимумі вмісту VEGF (о 14.00 год.), мали в кінці експерименту достовірно меншу вагу, ніж пухлини, які опромінювались вночі, тобто за мінімального вмісту в них фактору росту ендотеліальних клітин. В групі мишей, що опромінювались о 14.00, гальмування росту пухлин порівняно з контролем дорівнювало 60,4%, а в групі тварин, що опромінювались вночі - 45%. Таким чином, гальмування росту пухлин у мишей, які опромінювались на максимумі вмісту VEGF, достовірно ($p<0,05$) перевищило гальмування росту пухлин у мишей, які опромінювались на мінімумі вмісту в них VEGF.

На Фіг.2 наведена динаміка росту саркоми 180 після ФДТ, орієнтованої на циркадіанні коливання процесів ангіогенезу в ній, з імунокон'югатом. Пухлини, яких лікували опівдні, практично не росли на протязі всього терміну спостереження, в той час як ті пухлини, що опромінювались опівночі, на 12-у добу після ФДТ майже досягли розміру контрольних, нелікованих пухлин.

Таким чином, при ФДТ з використанням гематопорфірину, кон'югованого з антитілами до VEGF, за умови вираховування добових коливань синтезу VEGF в пухлинах (проведення сеансів ФДТ в ті часові точки доби, коли в пухлинах спостерігається максимальний вміст VEGF), досягається зростання лікувального ефекту майже у 1,5 рази. Отже, одержані дослідні дані підтверджують дієвість способу, що заявляється.

Джерела інформації:

1. Способ фотодинамической терапии злокачественных новообразований. Патент РФ №2157268RU, МПК А61 N5/06, А61K31/375. / Государственный научный центр РФ "НИОПИК". - 3. №98117002/14; Опубл. 10.10.2000.

2. Куценко В.В., Горобец О.Б., Лозинский М.О., Борисевич А.Н., Холин В.В., Гамалея Н.Ф. Использование 5-аминолевулиновой кислоты в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии опухолей // Онкология. - 2004. - Т. 6, №3. - с. 225-230.

3. Mew D., Wat C.K., Towers G.H., Levy J.C. Photoimmunotherapy treatment of animal tumors with tumor - specific monoclonal antibody - hematoporphyrin conjugates // J. Immunol. - 1983. - Vol. 130, №3. - P. 1473-1477.

4. Giysene A., Missiaen L., Wilfried M., Witte P. Epidermal growth factor-mediated targeting of chlorine e6 selectively potentiates its photodynamic activity // Cancer Res. - 2000. - Vol. 60, №8. - P. 2197-2202.

5. Savellano M., Pogue B., Hoopes P., Vitetta E., Paulsen K. Multiepitope HER2 targeting enhances

photoimmunotherapy of HER2-overexpressing cancer cells with pyropheophorbide - immunoconjugates // Cancer Res. - 2005. - Vol. 65, №14. - P. 6371-6379.

6. Soukos N., Hamblin M., Keel S., Fabian R., Deutsch T., Hasan T. Epidermal growth factor receptor-targeting immunophotodiagnosis and photoimmunotherapy of oral precancer in vivo // Cancer Res. - 2001. - Vol. 61, №11. - P. 4490-4496.

7. Moreau C., Devos D., Brunaud-Danel V., Defebvre L., Perez T., Destée A., Tonnel A.B., Lassalle P., Just N. Paradoxical response of VEGF expression to hypoxia in CSF of patients with ALS Hi. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. - 2006. - Vol. 77, №2. - P. 255-257.

8. Koyanagi S., Kuramoto Y., Nakagawa H., Aramaki H., Ohdo S., Soeda S., Shimeno H. A molecular mechanism regulating circadian expression of vascular endothelial growth factor in tumor cells // Cancer Res. - 2003. - Vol. 63, №21. - P. 7277-7283.

Перелік фігур до заявки на корисну модель: "Спосіб фотодинамічної терапії злоякісних пухлин".

Фіг.1. ФДТ карциноми Льюїс із застосуванням кон'югату гематопорфірин-антитіла до VEGF, орієнтована на циркадіанні коливання процесів ангиогенезу в ній

Вісь X: гальмування росту пухлин (%)

Вісь Y: вага пухлини (мг)

■ - контроль

▨ - опромінення о 14.00

■ - опромінення о 2.00

Фіг.2. ФДТ саркоми 180 із застосуванням кон'югату гематопорфірин-антитіла до VEGF, орієнтована на циркадіанні коливання процесів ангиогенезу в ній

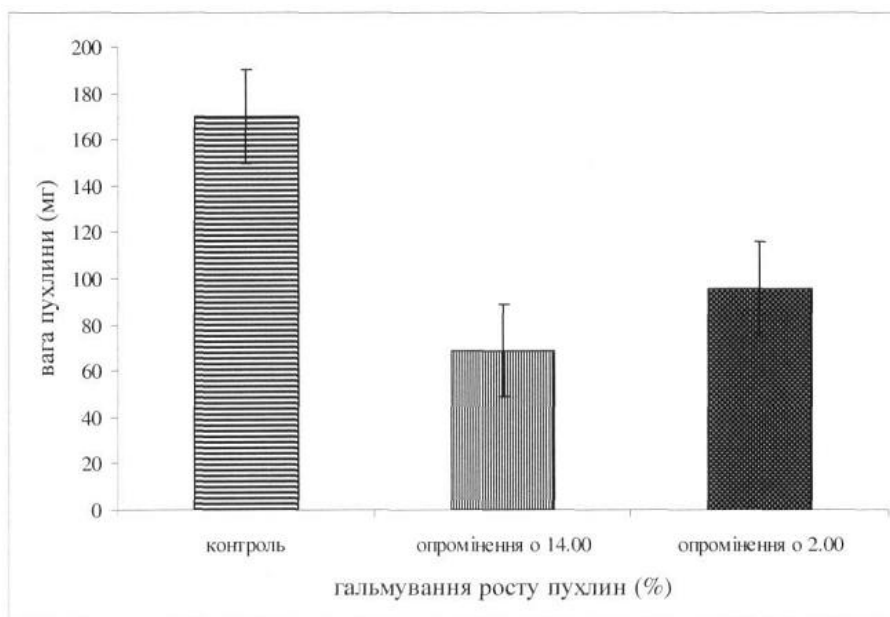
Вісь X: діаметр пухлин, см

Вісь Y: час після опромінення, доба

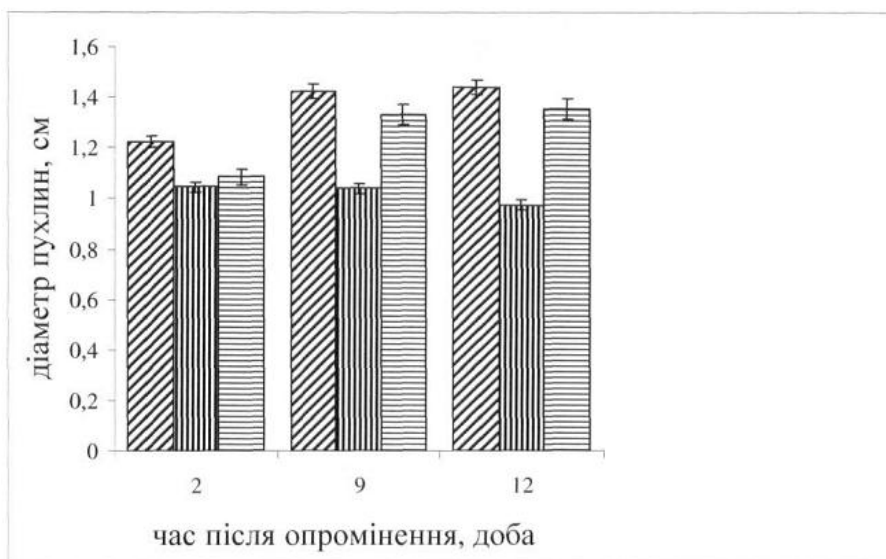
▨ - контроль

▨ - опромінення о 14.00

■ - опромінення о 2.00



Фіг. 1. ФДТ карциноми Льюїс із застосуванням кон'югату гематопорфірин-антитіла до VEGF, орієнтована на циркадіанні коливання процесів ангиогенезу в ній.



Фіг. 2. ФДТ саркоми 180 із застосуванням кон'югату гематопорфірин-антитіла до VEGF, орієнтована на циркадіанні коливання процесів ангиогенезу в ній.